Mircea Cucuianu
N. Olinic • A. Goia • T. Fekete

BIOCHIMIE CLINICĂ

Editura Dacia



vol 2

MIRCEA CUCUIANU

our Olinic Aurel Goia Tiberiu Fekete

•

BIOCHIMIE CLINICĂ

vol. II

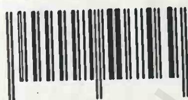
Coperta de: VIORICA RUSU

MIRCEA CUCUIANU

Nour Olinic Aurel Goia Tiberiu Fekete

BIOCHIMIE CLINICĂ

Vol. II



EDITURA DACIA
CLUJ-NAPOCA
1979

PREFAȚĂ LA VOLUMUL II

În prefața volumului I de Biochimie clinică, apărut în 1977, autorul își lua angajamentul să redacteze o continuare a problemelor de patologie biochimică neabordate în primul volum. La îndeplinirea acestei sarcini el a fost stimulat de aprecierile pozitive făcute de numeroși cititori cu privire la modul în care au fost prezentate primele cinci capitole.

Apariția primului volum a creat premisele pentru stabilirea unei colaborări cu alți clinicieni interesați în probleme de biochimie. Doctorul N. Olinic, avînd o experiență îndelungată în domeniul fiziopatologiei transportului de oxigen și al stărilor de hipoxie din cordul pulmonar cronic, a scris capitolul privind hemoglobina, iar doctorul A. Goia a redactat capitolul privind metabolismul porfirinelor, un domeniu în care a elaborat numeroase lucrări cu caracter clinic. Colectivul de redactare a beneficiat de vastele cunoștințe și spiritul sintetic al doctorului T. Fekete, care și-a asumat sarcina de a redacta capitolul referitor la metabolismul purinelor și pirimidinelor.

Alături de aceste capitole, volumul II mai conține și date privind metabolismul calciului, fosforului și magneziului, echilibrul acido-bazic, metabolismul fierului și cuprului, precum și metabolismul pigmenților și sărurilor biliare. Împreună cu cele cinci capitole cuprinse în primul volum, acest material furnizează informații cu privire la majoritatea problemelor de

biochimie întîlnite în practica clinică, fără a avea însă pretenția de a acoperi întregul domeniu al patologiei biochimice. Este de subliniat lipsa datelor privind biochimia hemostazei, biochimia imunității și biochimia clinică a hormonilor și vitaminelor.

În abordarea problematicii s-a pornit întotdeauna de la metabolismul unor substanțe cu rol fiziologic și semnificație patogenică și totodată dozabile în laboratorul clinic. Manifestările clinice și valoarea diagnostică a modificărilor umorale au fost tratate în strînsă legătură cu anomaliile prezentate de metabolismul acestor substanțe. S-a încercat în acest fel o apropiere a datelor fundamentale de practica clinică și o integrare a clinicii cu laboratorul.

Cititorul este chemat să aprecieze în mod critic în ce măsură a reușit această integrare care constituie de altfel principalul scop al cărții de față.

CUPRINS

VI METABOLISMUL CALCIULUI, FOSFORULUI ȘI MAGNEZIULUI

Cea mai mare parte a calciului (90%) și a fosforului (85%) și mai bine de jumătate din cantitatea de magneziu din organism se găsesc în oase. Cu toate acestea, elementele amintite joacă un rol fiziologic însemnat nu numai în menținerea structurii scheletului. Așa de exemplu, ionii de calciu influențează permeabilitatea membranelor celulare și capilare, scad excitabilitatea neuro-musculară și sînt necesari pentru contracția miocardului. Ionii de calciu intervin și în activarea unor sisteme enzimatice, inclusiv în cele implicate în procesul de coagulare.

Metabolismul calciului este strîns intricat cu cel al fosforului (sub formă de fosfați), iar raportul dintre aceste minerale influențează absorbția lor intestinală și depunerea lor în oase sub formă de complexe insolubile. Fosfații au însă și rolul lor propriu în formarea unor sisteme tampon și mai ales în formarea unor legături fosfatice macroergice (ATP, creatinfosfat).

Magneziul intracelular are o serie de funcții metabolice particulare, catalizînd sisteme enzimatice implicate în sintezele proteice și eliberarea de energie. Fracțiunea extracelulară (aproximativ 1%) intervine însă, alături de calciu, în condiționarea excitabilității neuromusculare. Din aceste motive calciul, fosfații și magneziul vor fi discutați în același capitol.

DATE REFERITOARE LA FIZIOLOGIA CALCIULUI

Repartizarea calciului în organism

Calciul se găsește în organismul uman în cantități mai mari decît oricare alt cation (1.100 g calciu în comparație cu aproximativ 80 g de sodiu; întrucît majoritatea calciului se găsește sub formă de complexe insolubile este recomandabil ca valorile calciului total

să nu se exprime în mEq/l). Cea mai mare parte a calciului (peste 1000 g) este cantonată în ţesutul osos. Aproximativ 10 g calciu se găsesc în diverse celule iar mai puţin de 1 g se află în sectorul extracelular (lichid interstiţial, plasmă, lichide transcelulare, ţesut conjunctiv). Mai bine studiate sînt, la ora actuală, calciul din ţesutul osos şi calciul plasmatic.

Calciul din oase

Se găseşte sub formă de sare complexă, posibil identică cu hidroxiapatita ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$). Această sare formează cristale care impregnează o matrice proteică. Cea mai mare parte a proteinelor din ţesutul osos este reprezentată de colagen. Întrucît această scleroproteină conţine doi aminoacizi, hidroxiprolina şi hidroxilizina, care nu se găsesc în alte proteine, excreţia urinară a acestor aminoacizi poate furniza indicii cu privire la viteza de catabolizare a proteinelor din ţesutul osos (12). Structura proteică a ţesutului osos sugerează că osteogeneza implică nu numai o depunere de calciu dar şi o sinteză de proteine, respectiv de colagen. Pe de altă parte orice resorbţie de calciu din ţesutul osos se însoţeşte de o degradare de colagen. Oasele sînt bine vascularizate, debitul sanguin osos fiind de aproximativ 200—400 ml/minut. Ţesutul osos suferă o remaniere permanentă, mineralele de la acest nivel fiind mereu resorbite şi refăcute. Se admite că unele celule osoase, osteoblastele, au rol în formarea de ţesut osos, iar osteoclastele au rol în resorbţie, dar mecanismele biochimice intime ale acestui proces nu sînt încă pe deplin elucidate. O verigă în procesul de osteogeneză ar putea fi reprezentată de producerea unei fosfataze alcaline de către osteoblaşti. Sub acţiunea acestei fosfataze se produce hidroliza unor esteri de fosfat în interstiţiul oaselor, iar fosfaţii eliberaţi favorizează precipitarea calciului de la acest nivel, sub formă de fosfaţi de calciu insolubili. De notat că precipitarea fosfaţilor de calciu survine atunci cînd produsul dintre concentraţia ionilor de calciu şi cea de fosfaţi depăşeşte o anumită valoare. Cunoaşterea mai aprofundată a proteinelor din matricea ţesutului osos şi a modificărilor stereochimice pe care acestea le pot suferi ar putea elucida multe aspecte din fiziologia şi patologia ţesutului osos (8, 10, 12).

Aşa cum s-a arătat (pag. 273, vol I) ţesutul osos poate fixa cca 1400 mEq de sodiu inactiv osmotic. De asemenea în ţesutul osos se poate fixa plumb, precum şi unele elemente radioactive (radiu, plutoniu, stronţiu).

Calciul plasmatic

Se găseşte într-o concentraţie de 10 mg/100 ml, respectiv 5 mEq/l. Aproape jumătate din această cantitate este însă fixată de proteine sub formă neionizată şi nedifuzibilă. Calciul fixat de proteine reprezintă o formă inactivă fiziologic şi constituie probabil doar o formă de transport, prin plasmă. O mică cantitate de calciu este difuzibilă dar neionizată, fiind reprezentată de citraţi şi carbonaţi de calciu. Restul calciului plasmatic, aproximativ 2,1—2,7 mEq/l, se găseşte sub formă ionică şi constituie fracţiunea activă în procesele de hemostază şi de reglare a excitabilităţii neuro-musculare. Dozarea calciului ionic este dificilă, necesitînd ultracentrifugare pentru sedimentarea proteinatului de calciu. Valoarea calciului ionic poate fi aflată însă cu oarecare aproximaţie ţinîndu-se cont de concentraţia proteinelor plasmatice, după următoarea formulă, propusă în 1954 de Zeisler:

$$Ca^{++} = \frac{6Ca - \frac{Pr}{3}}{P_r + 6}$$

în care: Ca = calcemia în mg/100 ml, iar Pr = proteinemia în g/100 ml. De exemplu: Ca = 10 mg/100 ml (5 mEq/l) iar P_r = 7 g/100. Calciul ionic va fi:

$$Ca^{++} = \frac{6 \times 10 - \frac{7}{3}}{7 + 6} = 4,4 \text{ mg/100 ml sau } 2,2 \text{ mEq/l}$$

Fracţiunea ionizată a calciului seric are tendinţa să scadă în caz de alcalinizare a sîngelui, cînd capacitatea proteinelor de a fixa calciul creşte (10, 11, 20).

Concentraţia plasmatică a fosfaţilor anorganici (exprimaţi ca fosfor)

Este de 3—4,5 mg/100 ml, la adult, şi de 4—7 mg/100 ml la sugar. Transformarea fosforului anorganic din mg/100 ml în miliechivalenţi/litru este o problemă destul de complicată, întrucît ionul fosfat se găseşte în plasmă sub două forme: HPO_4^{--} şi $H_2PO_4^{-}$. La un pH fiziologic al sîngelui, aproximativ 80% este sub formă de fosfat bibazic şi 20% sub formă de fosfat monobazic. Ţinîndu-se cont că greutatea atomică a P este 31 şi luînd în considerare valenţele celor două forme de fosfaţi:

$$\text{mEq P/litru} = \left[10\left(0,8 \times \frac{2}{31}\right) + 10\left(0,2 \times \frac{1}{31}\right)\right] \times \text{mg P/100 ml}$$

sau după simplificări:

$$mEq\ P/litru = 0,58 \times mgP/100\ ml.$$

Acest factor este însă valabil doar pentru un pH de 7,4, întrucît raportul dintre HPO_4^{--} şi $H_2PO_4^-$ variază cu pH-ul. Aşa de exemplu la un pH de 7,1, factorul de conversie nu mai este 0,58 ci 0,54, iar în urină, la un pH de 6, factorul de conversie devine 0,36.

Un alt mod de exprimare a fosfaţilor serici este sub formă de milimoli la litru, făcîndu-se abstracţie de valenţa celor două forme de fosfaţi. În acest caz se înmulţeşte valoarea fosfaţilor anorganici în mg/100 ml (exprimaţi ca P) cu 10 pentru a obţine concentraţia lor la litru şi se împarte la 31 (greutatea atomică a P).

Aşa de exemplu 4 mg P/100 ml, corespund la 2,32 mEq/l şi, respectiv, 1,26 mMoli/l

Echilibrul calciului în organism

Cantitatea totală de calciu din organism depinde de echilibrul între aport şi pierderi. Studii cu izotopi au arătat, de asemenea, că între diversele compartimente ale calciului există un schimb permanent, putînd ajunge la o intensitate de 100—300 mg/oră. Întrucît absorbţia intestinală sau excreţia urinară de calciu sînt mult inferioare acestor cifre, rezultă că homeostazia calciului se realizează în special prin schimburile rapide între calciul plasmatic şi cel din compartimentele osoase şi celulare (10).

Aportul de calciu este în funcţie de regimul alimentar şi de capacitatea de absorbţie a intestinului. Alimentele bogate în calciu sînt laptele, brînzeturile, gălbenuşul de ou, nucile. Absorbţia calciului este stînjenită atunci cînd în lumenul intestinal există mari cantităţi de fosfaţi, de alcalii, de acid fitic (din cereale) şi de oxalaţi (din spanac). De asemenea, un exces de acizi graşi în lumenul intestinal, ca de exemplu în cazul steatoreilor şi a deficitului de bilă, va favoriza formarea de săpunuri de calciu insolubile, diminuînd absorbţia calciului. Vitamina D este necesară pentru o absorbţie satisfăcătoare a calciului (vezi pag. 19).

Necesităţile de calciu ale unui adult sînt de aproximativ 0,6—0,8 g/zi. În graviditate, necesităţile cresc la 1,2—1,3 g/zi. Necesităţile de fosfaţi sînt similare cu cele de calciu, cu excepţia sugarilor la care, pentru cele 0,4—0,6 g Ca, se recomandă doar 0,2—0,3 g fosfaţi (raportul Ca/P în laptele de mamă fiind 2/1).

Pierderile de calciu se efectuează prin urină şi fecale. Calciul fecal reprezintă nu numai calciul alimentar neabsorbit dar şi cel secretat activ în intestin. Pierderile urinare de calciu sînt mici, fiind de

100—200 mg/24 h (5—10 mEq). Evident că eliminările urinare de calciu depind şi de conţinutul în calciu al alimentelor. Se poate vorbi de o hipercalciurie atunci cînd eliminările, pe 24 de ore, depăşesc 200 mg, în cazul unui regim liber, şi 150 mg, în cazul unui regim cu restricţie severă de calciu (10). De notat că un regim bogat în clorură de sodiu creşte calciuria, iar regimul desodat scade eliminările urinare de calciu (10). Aceste eliminări urinare de calciu sînt crescute şi în cursul acidozei metabolice. Se pare că aproape 99% din calciul filtrat la nivelul glomerulilor este apoi reabsorbit de către tubii renali, printr-un mecanism biologic activ încă insuficient elucidat (8,10).

Eliminările urinare de fosfaţi sînt în medie de 1 g/24 h, oscilînd însă în limite destul de largi (0,5—2,2 g/24 h).

Reglarea calcemiei

Principalul factor în reglarea calcemiei este reprezentat de hormonul paratiroidian, secretat de glandele paratiroide. Calcitonina, produsă în glandele tiroide, are efecte opuse hormonului paratiroidian asupra nivelului calcemiei. Ambii hormoni reglează nivelul calciului ionic pe seama rezervelor de calciu din oase (8, 10, 11). Vitamina

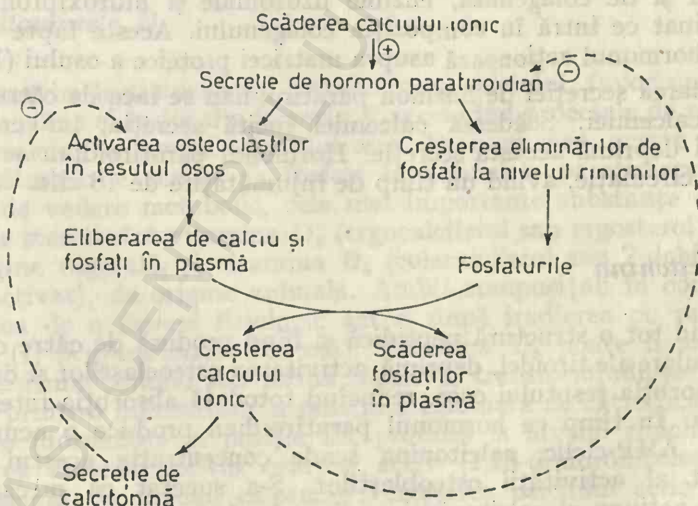


Fig. 6—1. **Mecanismele de reglare a calcemiei (linia întreruptă reprezintă inhibiţia)**

D crește absorbția de calciu din intestin și, în cantități fiziologice, favorizează acțiunea hormonului paratiroidian (5). În figura 6—1 sînt trecute mecanismele de reglare a calcemiei.

Hormonul paratiroidian

Avînd o structură polipeptidică, produce o creștere a concentrației calciului ionizat prin următoarele mecanisme de acțiune:

a) stimularea directă a osteoclaștilor, care eliberează săruri de calciu din oase în lichidul extracelular. Această acțiune duce atît la creșterea calciului cît și la creșterea fosfaților din umori.

b) diminuarea reabsorbției tubulare a fosfaților din filtratul glomerular, cu fosfaturie consecutivă. Această acțiune duce la scăderea fosfaților plasmatici. Efectul final al hormonului paratiroidian este de a crește calcemia și a scădea fosfatemia. Se discută și o acțiune de stimulare a absorbției intestinale de calciu sub efectul hormonului paratiroidian (10). Se pare că hormonul paratiroidian își exercită acțiunile amintite mai sus prin intermediul sistemului adenilciclază — AMP ciclic (3) (vezi și pag. 269). S-a arătat că efectul parathormonului, la nivelul țesutului osos, nu se limitează numai la eliberarea de calciu, ci și de colagenază, enzime lizozomale și hidroxiprolină, un acid aminat ce intră în compoziția colagenului. Aceste fapte denotă că parathormonul acționează asupra matricei proteice a osului (10, 12).

Reglarea secreției de hormon paratiroidian se face de către însăși nivelul calcemiei. Scăderea calcemiei incită secreția, iar creșterea calcemiei deprimă această secreție. Hormonul paratiroidian se degradează în circulație, avînd un timp de înjumătățire de 18 zile.

Calcitonina

Avînd tot o structură peptidică și fiind produsă de către celulele parafoliculare ale tiroidei, deprimă activitatea osteoclaștilor și diminuă astfel resorbția țesutului osos, reducînd totodată absorbția intestinală de calciu. În timp ce hormonul paratiroidian produce o acumulare de 3—5 AMP-ciclic, calcitonina scade concentrația acestui agent stimulant al activității osteoblaștilor. S-a sugerat că mecanismul intim de acțiune al calcitoninei ar fi acela de inducere a sintezei de fosfodiesterază, enzimă care inactivează 3—5 AMP-ciclic în țesutul osos.

Creşterea nivelului calcemiei reprezintă un important stimul pentru producerea de calcitonină. În ultimii ani, s-a arătat însă că secreţia de calcitonină poate fi rapid declanşată de către un peptid sintetic, pentagastrina, şi de către gastrina secretată în sînge de mucoasa gastrică în urma introducerii de calciu în stomac. Prin acest mecanism precoce, care intervine înaintea oricărei creşteri decelabile a nivelului calciului seric, se previn creşterile bruşte postprandiale ale calcemiei (4 b).

Date recente atribuie calcitoninei o acţiune mai complexă în procesele metabolice, avînd între altele şi un efect de antagonizare a insulinei (9, 10).

Se pare că şi alţi hormoni intervin în metabolismul calciului. S-a sugerat astfel că hormonul de creştere ar stimula funcţia paratiroidelor, în timp ce gligocorticoizii au un efect hipocalcemiant inhibînd osteoliza indusă de parathormon. Dozele mari de cortizon limitează însă formarea matricei proteice a osului şi perturbă astfel osteogeneza. Formarea acestei matrice este în schimb favorizată de hormonii sexuali androgeni şi estrogeni. Pentru detalii, privind reglarea hormonală a metabolismului calciului, recomandăm monografia scrisă de L. Gozariu şi Rodica Dascălu (10).

Vitaminele D

Intervin de asemenea în metabolismul calciului, favorizînd absorbţia de calciu şi fosfor din intestin şi accelerînd procesele de remaniere a mineralelor la nivelul ţesutului osos. De asemenea, aceste vitamine cresc eliminările renale de fosfaţi la animalele paratireoprive. Din punct de vedere metabolic, cele mai importante substanţe din acest grup de steroli sînt vitamina D_2 (ergocalciferol sau ergosterol activat), de origine vegetală, şi vitamina D_3 (colecalciferol sau 7-dehidrocolesterol activat), de origine animală. Ambii compuşi au în comun proprietatea de a deveni fiziologic activi după iradierea cu raze ultraviolete (1) (λ aproximativ 265 nm). Vitamina D_3 poate fi sintetizată în organismul animal sub formă inactivă, transformîndu-se în formă activă printr-o hidroxilare în poziţia 1 efectuată de către ficat, urmată de o hidroxilare în poziţia 25, produsă la nivelul rinichiului. De notat că sinteza acestui compus activ (1,25-dihidroxicolecalciferol) este reglată de nivelul calcemiei; creşterea calciului seric inhibînd sinteza, iar hipocalcemia stimulînd producerea de factor activ (5).

Mecanismul intim de acţiune al vitaminelor D pare a fi inducerea de acid ribonucleic mesager (mARN) necesar pentru sinteza unor

proteine fixatoare de calciu din mucoasa intestinală. Aceste proteine ar interveni apoi în sistemul de transport activ al calciului şi, respectiv, în absorbţia calciului şi fosforului prin mucoasa intestinală (23). De remarcat că efectul inductor al vitaminei D este comparabil cu inducerea de proteinenzime, cu rol în gliconeogeneză, de către glicocorticoizi, avînd de asemenea o structură sterolică (vezi pag. 109, vol. I).

Rolul fiziologic al calciului

Deşi reprezintă doar o mică fracţiune a calciului total, calciul din umori şi din părţile moi ale organismului joacă un rol fiziologic deosebit de important. Aşa, de exemplu, ionii de calciu sînt necesari pentru activitatea unor enzime, cum ar fi cele implicate în procesele de coagulare, şi pentru producerea agregării plăcuţelor sanguine în cursul procesului de hemostază. Pe de altă parte, ionii de calciu reduc excitabilitatea neuromusculară în musculatura scheletică producînd însă o creştere a contractilităţii miocardului. Date moderne de biofizică încearcă să explice intervenţia calciului în reglarea excitabilităţii celulare pe baza modificărilor induse de calciu în permeabilitatea membranelor celulare. Graţie dublei sale încărcături pozitive şi a volumului său mic, ionul de calciu stabileşte legături cu radicalii electronegativi ai moleculelor proteice şi fosfolipidice din membranele celulare. Prin acest proces, mobilitatea şi separarea moleculelor din membrane sînt limitate iar permeabilitatea celulară scade. Aceste modificări de permeabilitate influenţează repartizarea ionilor şi potenţialul electric al celulelor, respectiv excitabilitatea acestora (10, 24).

PERTURBAREA METABOLISMULUI CALCIULUI

Patologia calciului implică modificări ale nivelului calcemiei şi modificări ale proceselor de osteogeneză şi osteoliză.

Hipocalcemiile şi tetania

Hipoparatiroidismul

În prezenţa unei hipocalcemii este important să se precizeze dacă scăderea calciului se realizează pe seama celui ionizat sau pe seama celui legat de proteine.

Scăderea calciului nedifuzibil (legat de proteine) însoțește orice hipoproteinemie aparentă sau reală. Scăderi ale calcemiei se vor întîlni deci în hiperhidratări, în sindromul nefrotic și în denutriție. În această ultimă situație, poate scădea și calciul ionic, ca urmare a unui deficit în vitamina D. Scăderile calciului legat de proteine nu se repercută asupra excitabilității neuromusculare și are deci o semnificație clinică minoră.

Scăderea calciului ionic poate fi bănuită atunci cînd proteinele plasmatice prezintă valori normale, iar calcemia este redusă. Cea mai importantă cauză a scăderii calciului ionic este *insuficiența paratiroidiană*, datorită, de cele mai multe ori, lezării paratiroidelor în cursul intervențiilor chirurgicale pentru tiroidectomie. În lipsa hormonului paratiroidian se produce un deficit în procesul de mobilizare a calciului din oase și în procesul de eliminare urinară a fosfaților. În consecință, hipocalcemia se va însoți de o creștere a fosfatemiei. Scăderea calciului ionic duce la creșterea excitabilității neuromusculare ce se manifestă clinic sub forma tetaniei paratireoprive. Se constată o creștere a tonusului muscular, spasme ale musculaturii extremităților, spasm al glotei și, uneori, convulsii generalizate. Mai rar apar spasme esofagiene și fenomene astmatice. În formele latente, hiperexcitabilitatea neuromusculară se evidențiază prin scăderea cronaxiei. Tetania latentă poate trece într-o formă acută, în urma alcalinizării produse de o hiperventilație, cauzată de o emoție, sau în urma ingestiei de alcaline. Alți factori favorizanți ai accesului de tetanie sînt infecțiile acute, traumatismele și menstruația.

Un nivel scăzut al calciului și o creștere marcată a fosfaților se poate întîlni și în cazul lipsei de răspuns a tubilor renali la stimulul hormonal (pseudohipoparatiroidism). Alături de semnele cauzate de hipocalcemie, se mai constată, în această boală cu caracter genetic, și alte anomalii, cum ar fi hipotrofie staturală, obezitate și oase metacarpiene scurte. Diferențierea între hipoparatiroidism și pseudohipoparatiroidism se poate face prin testul Ellsworth—Howard de provocare a unei fosfaturii, în urma injectării de hormon paratiroidian. În caz de hipoparatiroidism adevărat, tubii renali răspund la hormon printr-o creștere a fosfaturiei, de 10 ori valorile inițiale, pe cînd în cazul unei anomalii a tubilor, răspunsul nu apare. Recoltările de urină se fac pe timp de trei ore înainte și trei ore după administrarea de hormon (22).

O probă de laborator mult mai fidelă constă în determinarea creșterii urinare a 3—5-AMP ciclic în urma administrării de hormon paratiroidian. Această creștere lipsește la bolnavii cu pseudohipoparatiroidism, în timp ce la normali sau la pacienții cu deficit de

parathormon, valorile 3—5 AMP ciclic urinar cresc de 10—20 de ori (4).

Hipocalcemia şi hiperfosfatemia, asociate cu o retenţie de uree şi acizi organici capabili să fixeze calciul sub formă neionizabilă, se constată în *insuficienţa renală*. S-a sugerat (5) că în patogeneza hipocalcemiilor, survenite la bolnavii cu afecţiuni renale cronice, ar interveni şi un deficit în procesul de activare al vitaminei D_3, respectiv de hidroxilare în poziţia 25 a precursorului inactiv (vezi pag. 19).

Hipersecreţia patologică de calcitonină

În ultimii ani s-au descris hipocalcemii asociate cu hipofosfatemie cauzate de o *hipersecreţie patologică de calcitonină*. Această situaţie survine în carcinomul medular al tiroidei. Adeseori aceste carcinoame tiroidiene secretă şi alte peptide cu efect hormonal de tip ACTH, care duc la apariţia unui sindrom Cushing. Există şi posibilitatea asocierii carcinomului tiroidian cu alte adenoame endocrine, mai ales cu feocromocitoamele producătoare de catecolamine, cînd se realizează aşa-numitul sindrom Sipple (18).

Pancreatita acută poate provoca o hipocalcemie trecătoare, datorită precipitărilor de săpunuri de calciu, produse în urma eliberării crescute de acizi graşi rezultaţi din lipoliză. Se ştie că în pancreatita acută se eliberează din ţesutul necrozat lipază.

Deficitul de vitamină D

În *deficitul de vitamină D*, de exemplu în rahitism, hipocalcemia se însoţeşte de hipofosfatemie, întrucît în lipsa acestei vitamine suferă atît absorbţia intestinală a calciului cît şi cea a fosfaţilor. Tetania survine în cazurile de rahitism doar în perioada de remisiune, cînd, în urma administrării de vitamină D neasociată cu calciu, se reface mai ales nivelul fosfaţilor şi se poate produce o uşoară alcaloză (5, 8, 11).

Dealtfel, *alcaloza* (după vărsături, prin hiperventilaţie sau după ingerarea de alcaline) poate produce tetania chiar şi în prezenţa unui nivel normal al calciului seric total. S-a sugerat o formulă matematică, care încearcă să exprime excitabilitatea neuromusculară, în funcţie de concentraţia diverşilor electroliţi. Astfel:

$$\text{Tendinţa la tetanie} = \frac{[Na^+] + [K^+]}{[Ca^{++}][Mg^{++}][H^+]};$$

$$\text{sau iritabilitatea} = \frac{[HCO_3^-][PO_4H^{--}]}{[Ca^{++}][Mg^{++}][H^+]}$$

Valoarea practică a acestor formule este însă discutabilă.

Merită semnalată însă comportarea diferită a *fosfatazei alcaline* în funcţie de mecanismul de producere al hipocalcemiilor. Astfel, în hipocalcemiile consecutive unui deficit de hormon paratiroidian, fosfataza alcalină este normală, pe cînd în deficitul primar de calciu, de exemplu în rahitism sau nefrite cu pierderea urinară de calciu, fosfataza alcalină este de regulă crescută. Mecanismul intim al acestui fenomen pare a fi în legătură cu hiperparatiroidismul secundar hipocalcemiei. Aceasta duce la procese de resorbţie osoasă şi un răspuns compensator al osteoblaştilor, care secretă fosfataza alcalină.

În tabelul 6—1 sînt trecute cîteva criterii pentru diagnosticul hipocalcemiilor şi al tetaniilor.

Hipocalcemia prelungită duce şi la *suferinţe trofice*, cu friabilitatea părului şi unghiilor. Perturbările în metabolismul cristalinului, induse de o hipocalcemie cronică, pot cauza *cataractă*. Se pare că hipocalcemia cronică poate favoriza instalarea unor stări depresive şi a altor *manifestări de natură psihică* (11, 20).

Hipercalcemiile

Creşterea calciului legat de proteine survine doar în caz de hemoconcentraţie şi nu are o semnificaţie funcţională sau clinică. Ea coincide cu o creştere a hematocritului şi a concentraţiei proteinelor totale şi se rezolvă odată cu rehidratarea pacientului.

Creşterea calciului ionizat prezintă însă o semnificaţie deosebită întrucît ea denotă, de cele mai multe ori, o decalcifiere a ţesutului osos, iar eliminările crescute de calciu pe cale renală pot provoca leziuni ale tubilor. Cea mai frecventă cauză de hipercalcemie este hiperparatiroidismul.

Hiperparatiroidismul

Graţie dozărilor radioimunologice de hormon paratiroidian s-au putut surprinde astăzi o serie de condiţii patologice care evoluează cu hipersecreţie de hormon (10, 11, 22). Se poate distinge astfel: a) *hiperparatiroidism primar*, cauzat de obicei de adenoame benigne ale paratiroidelor şi, rareori, de carcinoame ale acestor glande. Hiper-

Tabel 6–1

Diagnosticul diferențial al hipocalcemiilor și tetaniilor (N=normal)

Starea patologică	Nivelul plasmatic de					Fosfaturia provocată de hormonul paratiroidian (testul Ellsworth Howard)	Semne de tetanie	Observații
	Ca	PO_4	Proteine	Uree	Fosfatază alcalină			
A. *Scăderea calciului legat de proteine* 1. Hiperhidratare	↓	N sau ↓	↓	N sau ↓	N sau ↓		Absente	Se normalizează după restricția lichidelor
2. Deficit de proteine	↓	N	↓	N sau ↓	N		Absente	Adeseori asociate cu carențe multiple
B. *Scăderea calciului ionizat* 1. Hipoparatiroidism	↓	↑	N	N	N	Răspuns crescut	Prezente	Adeseori după intervenții pe tiroidă
2. Pseudohipoparatiroidism	↓	↑	N	N	N	Răspuns diminuat	Prezente	Foarte rară
3. Insuficiență renală	↓	↑	N sau ↓	↑	N sau ↑	Răspuns diminuat	Uneori prezente	Tetania lipsește atunci cînd există și acidoză
4. Deficit de calciu și vitamina D	↓	↓	N sau ↓	N	↑		Uneori prezente	Tetania apare la începutul terapiei cu vitamina D
C. *Alcaloză* 1. Metabolică	N	↑ sau N	N	N	N		Prezente	pH crescut, bicarbonați crescuți
2. Respiratorie	N	N	N	N	N		Prezente	pH crescut, bicarbonați scăzuți

plazia difuză a paratiroidelor poate fi de asemenea o cauză de hiperparatiroidism. Secreţia de hormon paratiroidian este, în aceste cazuri, autonomă, adică nu depinde de nivelul calcemiei.

b) *Hiperparatiroidismul secundar* survine ca un răspuns adecvat al organismului la agenţii care tind să producă o scădere a concentraţiei calciului ionic. Astfel de situaţii se întîlnesc în insuficienţa renală, cu pierdere de calciu şi hiperfosfatemie, în rahitism şi osteomalacie (rahitismul adultului), în graviditate şi lactaţie. Glandele paratiroide hiperplaziate secretă mari cantităţi de hormon, a cărui concentraţie poate creşte de la valorile normale de 0,5—1 nanograme/ml, la valori de 15—20 nanograme/ml. Spre deosebire de hiperparatiroidismul primar, în hiperparatiroidismul secundar, secreţia de hormon este reglată de calcemie, iar atunci cînd nivelul calcemiei se reface, hipersecreţia de parathormon încetează (mecanism de feedback negativ). De aceea, în hiperparatiroidismul secundar, calcemia nu e niciodată crescută. Prin hiperparatiroidismul secundar, organismul previne prăbuşirea calcemiei şi instalarea tetaniei, dar aceasta se realizează pe seama spolierii calciului din oase.

c) *Hiperparatiroidismul terţiar* reprezintă o situaţie în care în urma unei stimulări prelungite a paratiroidelor de către o scădere persistentă a calciului ionizat, se ajunge la o hipertrofie marcată a acestora şi la o hipersecreţie autonomă, avînd toate caracterele unui hiperparatiroidism primar. Acest hiperparatiroidism persistă deci şi după ce cauza hipocalcemiei originale a fost îndepărtată (de exemplu după transplant renal, în caz de uremie, sau după corectarea hipocalcemiei). Este evident că în astfel de cazuri se ajunge cu timpul la hipercalcemie, deoarece secreţia autonomă de parathormon nu mai este oprită de un nivel normal sau crescut al calciului ionizat.

O secreţie autonomă de produşi, avînd efecte similare hormonului paratiroidian, poate surveni şi în caz de *producţie ectopică* a unor peptide, cu acţiune hormonală, de către variate tumori maligne ale unor ţesuturi, care, în condiţii normale, nu produc astfel de peptide. Un astfel de pseudohiperparatiroidism paraneoplazic se întîlneşte mai ales în cancerele renale sau pulmonare (21). Creşterea nivelului plasmatic de parathormon survine extrem de frecvent în insuficienţa renală cronică şi pare a se datora nu numai unui clearance deficitar dar şi unei hipersecreţii. Există indicii că acest exces de parathormon ar putea contribui la explicarea unor manifestări patologice din uremie, cum ar fi anomaliile neurologice, pruritul şi necrozele osoase (1b).

Semnele de laborator ale hiperparatiroidismului constau din hipercalcemie (valori peste 5,5 mEq/l respectiv 11 mg%), hipofosfatemie (valori sub 1,5 mEq/l, respectiv 2,7 mg%), hipercalciurie (valori

peste 200 mg/24 h) şi hiperfosfaturie (această ultimă manifestare fiind însă variabilă şi nepatognomonică). Creşterea fosfatazei alcaline osoase reprezintă semnul caracteristic pentru reacţiile osteoblastice compensatorii. De notat că, în formele de debut ale hiperparatiroidismului primar fără afectarea exprimată a ţesutului osos, fosfataza alcalină este puţin modificată (11, 20, 22). Un semn util, în special pentru evidenţierea afectării scheletului, constă în creşterea eliminărilor urinare de hidroxiprolină (valori peste 65 mg/24 h). Dozarea radioimunologică a hormonului paratiroidian este de dată recentă, dar extinderea acestei investigaţii va permite elucidarea multor hipercalcemii la limită şi va fi de o mare utilitate în special pentru diagnosticarea hiperparatiroidismului secundar în care hipercalcemia lipseşte (10).

Manifestările clinice din hiperparatiroidism sînt legate de efectele hormonului paratiroidian asupra ţesutului osos şi asupra rinichilor.

a) *Leziunile osoase* sînt cauzate de proliferarea osteoclaştilor care lizează matricea de colagen şi duc la resorbţia mineralelor din os. Acest proces de resorbţie antrenează o proliferare compensatoare a osteoblaştilor, care duce la creşterea fosfatazei alcaline. Evident, în prezenţa unui deficit de calciu, reacţia osteoblastică este ineficientă. Este important de ştiut că în hiperparatiroidismul primar, afectarea oaselor devine clinic manifestă doar în formele cu durată prelungită. În aceste cazuri, leziunile osoase realizează boala lui von Recklinghausen (osteita sau mai corect osteoza fibrochistică sau osteoza fibroasă generalizată), care se trădează, pe plan clinic, prin dureri oasoase asociate cu deformări şi tumefieri ale oaselor; radiologic se constată o decalcifiere generalizată, eroziuni subperiostale şi formarea de chisturi în oase; histologic se constată o creştere marcată a osteoclaştilor. Tumefierile oaselor se dovedesc a fi produse de un ţesut de granulaţie. Adeseori se asociază o reacţie osteoblastică căreia îi corespunde, pe plan umoral, o creştere a fosfatazei alcaline. Distrucţiile osoase se însoţesc de o creştere a unor polipeptide, conţinînd hidroxiprolină, indicînd degradarea colagenului din matricea organică a oaselor. Toate manifestările cedează dramatic după extirparea paratiroidelor. Calciul seric scade de la 6—9 mEq/l, la 3 mEq/l, iar reacţia osteoclastică este oprită. Evident, în astfel de situaţii, lipsa administrării de calciu poate duce la tetanie.

În hiperparatiroidismul secundar asociat unui deficit de vitamină D (rahitism şi osteomalacie), manifestările osoase sînt oarecum diferite. Astfel, durerile osoase sînt rareori însoţite de tumefieri ale oaselor, iar eroziunile subperiostale şi formarea de chisturi osoase sînt manifestări excepţional de rare. Histologic, predomină osteoidul necalcificat. Reacţia osteoclastică este mai puţin exprimată,

iar osteoblaştii, întotdeauna crescuţi, coincid cu o creştere marcată a fosfatazei alcaline, care, de cele mai multe ori, depăşeşte valorile întîlnite în hiperparatiroidismul primar. Fenomenele cedează la administrarea de calciu şi vitamină D.

b) *Afectarea rinichiului* survine doar în hiperparatiroidismul primar şi terţiar, în care există o hipercalcemie şi o hipercalciurie consecutivă, persistentă. Aceste leziuni renale apar în special atunci cînd urina tinde să devină alcalină, ceea ce favorizează precipitările de fosfaţi de calciu. Alcalinizarea urinii survine în caz de vărsături repetate, ingestia de alcaline în ulcerul gastric şi duodenal sau abuzul de alimente alcaline, cum este laptele, ori în unele infecţii urinare (de exemplu cu proteus). Principalele forme anatomoclinice realizate sînt nefrolitiaza şi nefrocalcinoza.

În *nefrolitiază* predomină formarea de calculi urinari de fosfat de calciu, radioopaci şi care, uneori, ajung să umple calicele, ducînd la hidronefroză. Deşi numeroşi pacienţi cu hiperparatiroidism ajung la nefrolitiază, totuşi abia 1—5% din cazurile de nefrolitiază sînt cauzate de hiperfuncţia paratiroidelor. În restul cazurilor, se incriminează procese osteoporotice, cauzate de imobilizări prelungite, leziuni metastatice destructive ale oaselor, infecţii ale tractului urinar sau o predispoziţie constituţională.

În *nefrocalcinoză*, depunerile de fosfat de calciu au loc chiar în parenchimul renal, şi anume în lumenul tubilor distali sau colectori, în celulele tubulare sau în interstiţiu. Uneori depunerile sînt atît de exprimate încît devin vizibile pe radiografii ale rinichilor. Cu timpul, afectarea funcţiei renale devine severă, iar scleroza renală şi uremia se instalează chiar după tratarea hiperparatiroidismului.

Alterarea funcţiei renale duce încă din fazele iniţiale la o creştere a eliminărilor de calciu, care nu se mai retroresoarbe din filtratul glomerular. De asemenea, deficitul de retroresorbţie al apei duce la o poliurie precoce. Pe de altă parte, diminuă eliminările de fosfor, tubii renali devenind incapabili să răspundă la hormonul paratiroidian. Pe măsura acumulării de uree, se produce o scădere a calcemiei şi o creştere a fosfatemiei, astfel încît, în asemenea situaţii, diagnosticul de hiperparatiroidism este extrem de dificil, necesitînd dozări hormonale.

c) *Modificarea excitabilităţii neuromusculare* apare adeseori în hiperparatiroidismele care evoluează cu creşteri marcate ale calcemiei. Scăderea excitabilităţii neuromusculare, în musculatura striată şi netedă, sînt în măsură să explice atît hipotonia musculară, cît şi constipaţia rebelă a acestor pacienţi. Anorexia, greaţa şi voma hipercalcemicilor pot fi explicate printr-un efect central.

d) *La nivelul inimii,* hipercalcemia poate provoca modificări funcţionale, care se evidenţiază electrocardiografic, iar în caz că nivelul calciului creşte brusc, la valori de peste 15 mg/100 ml (7,5 mEq/l) există riscul de stop cardiac.

Alte hipercalcemii

Creşteri ale calciului ionizat se întîlnesc şi în situaţii în care nu există un hiperparatiroidism. Dimpotrivă, în urma hipercalcemiei , la care se ajunge prin alte mecanisme, se produce chiar o inhibiţie a secreţiei de hormon paratiroidian (feed-back negativ). Astfel, în *excesul de vitamină D* se produce o exagerare a absorbţiei intestinale de calciu, ajungîndu-se la hipercalcemii periculoase. În alte cazuri, există o hipersensibilitate a organismului la doze terapeutice de vitamina D, ca de exemplu în *hipercalcemia idiopatică a sugarului.* Se pare deci că terapia cu vitamina D nu este lipsită de riscuri şi că controlul calcemiei este o măsură necesară. Hipercalcemii cu un mecanism de producere obscur s-au descris în *sarcoidoză* şi în *intoxicaţia cronică cu beriliu* (un element folosit în industria lămpilor cu fluorescenţă).

Hipercalcemia din tireotoxicoză este datorită probabil unei acţiuni directe a tiroxinei asupra osului.

Hipercalcemiile ce însoţesc afecţiunile maligne ale oaselor se produc atît prin acţiunea locală destructivă, cauzată de procesul malign, cît şi prin eliberarea, în unele cazuri, a unor peptide cu acţiune similară cu cea a hormonului paratiroidian (producere ectopică), aşa cum s-a arătat mai sus (vezi pag. 25).

Fosfataza alcalină este, de regulă, crescută în metastazele osoase ale carcinoamelor mamare, tiroidiene, ovariene, pulmonare sau renale, atunci cînd se produce o reacţie osteoblastică compensatoare faţă de destrucţiile osoase. În schimb, în caz de mielom multiplu (plasmocitom), fosfataza alcalină nu este niciodată crescută (11,22).

Hipercalcemia din sindromul lapte-alcaline produs de ingestia excesivă de lapte şi substanţe alcaline este o stare patologică rar întîlnită astăzi. Faptul atrage totuşi atenţia asupra pericolului pe care-l prezintă excesul acestui gen de terapie aplicată la bolnavii ulceroşi (11).

Afecţiuni ale oaselor care nu modifică nivelul calcemiei

Există şi afecţiuni ale ţesutului osos în care nivelul calciului plasmatic nu este semnificativ modificat (1, 10, 11, 22).

Osteoporoza se caracterizează prin reducerea matricei proteice a oaselor cu o decalcifiere secundară. O astfel de situaţie poate surveni în caz de carenţă de proteine sau catabolism proteic excesiv, precum şi în caz de imobilizare prelungită, mişcările şi

presiunea excitată asupra ţesutului osos constituind stimulul fiziologic al osteoblaştilor. Osteoporoza s-a mai descris şi în deficitul de estrogeni şi în cursul procesului de îmbătrînire. Întrucît, în astfel de situaţii, mobilizările de calciu şi fosfaţi din oase se petrec treptat şi nu ajung să depăşească capacitatea de eliminare renală, aceste minerale nu cresc în ser. Fosfataza alcalină este normală, întrucît reacţia osteoblastică lipseşte. Aceste elemente sînt de ajutor pentru diagnosticul diferenţial faţă de osteomalacie (11, 20, 22).

Boala lui Albright sau displazia fibroasă a osului este o afecţiune foarte rară, apărînd înainte de pubertate, şi în care leziunile osoase diseminate coexistă cu pigmentări cutante segmentare şi uneori cu precocitate sexuală la fetiţe. Etiopatogenia bolii este neelucidată, iar modificările umorale sînt minime (1).

Boala lui Paget (osteita deformantă) constituie o afecţiune diseminată, dar nu generalizată a oaselor, în care, porţiuni din ţesutul osos sînt resorbite şi apoi înlocuite cu ţesut osos de neoformaţie. Întrucît calciul eliberat din ţesutul osos pe cale de liză este rapid utilizat în zonele pe cale de reparaţie, nivelul calciului şi fosfaţilor plasmatici nu este, de regulă, modificat. Creşterea fosfatazei alcaline este însă deosebit de exprimată (11). Caracteristică este şi eliminarea urinară a unor fragmente peptidice scurte, conţinînd hidroxiprolină, expresie a catabolismului accelerat al matricei proteice a oaselor (13).

Hipofosfatazia este o afecţiune genetică, cu caracter autosomal recesiv, care afectează de obicei sugarii, întîlnindu-se însă şi la adulţi. Deşi foarte rară, boala are o importanţă teoretică deosebită deoarece leziunile osoase de tip rahitic, rezistente la vitamina D, se asociază cu o scădere pronunţată a fosfatazei alcaline şi o creştere a fosfoetanolaminei în plasmă şi urină. Se bănuieşte că mecanismul patogenetic principal este un deficit în sinteza de fosfatază alcalină. Creşterea fosfoetanolaminei (care în mod normal intră în compoziţia unor fosfolipide, şi anume a cefalinelor) poate sugera că acest ester fosforic al etanolaminei reprezintă substratul fiziologic al fosfatazei alcaline în oase. Lipsa de enzimă duce la acumularea de substrat, respectiv de fosfoetanolamină, care ajunge să se elimine prin urină în cantităţi de pînă la 30 mg/zi, în timp ce la normali nu este detectabilă.

Faptul că la bolnavii cu hipofosfatazie apar manifestări de rahitism, în prezenţa unui nivel normal al calciului şi fosfaţilor serici şi că modificările osoase sînt rezistente la vitamina D, demonstrează rolul important al fosfatazei alcaline în mineralizarea ţesutului osteoid. Dozarea fosfatazei alcaline este de asemenea principalul mijloc de diagnostic diferenţial între această afecţiune şi rahitism, în care activitatea enzimei este crescută în umori. Este de notat faptul că tratamentul cu vitamina D la bolnavii cu hipofosfatazemie nu numai că nu ameliorează manifestările osoase dar poate duce la hipercalcemii, hipercalciurii şi nefrolitiază. Fenomenul se explică prin aceea că absorbţia intestinală crescută de calciu şi fosfaţi, sub acţiunea vitaminei D, nu este urmată de o depunere în oase (2, 11).

Perturbările reabsorbţiei tubulare a fosfaţilor, aşa cum survin în unele boli cu caracter familial ale tubilor renali, se pot repercuta asupra procesului de osificare, prin

carenţa de fosfaţi, la care se ajunge. Aceşti pacienţi ajung să prezinte leziuni osoase similare cu cele întîlnite în rahitism, care nu răspund însă la tratamentul cu vitamina D. Sindromul a căpătat, din acest motiv, numele de rahitism renal. Pe plan umoral se constată o hipofosfatemie, cu calciu seric în limite normale şi o creştere marcată a fosfatazei alcaline. Cînd pierderile de fosfaţi fac parte dintr-un defect mai generalizat de reabsorbţie tubulară, se realizează *sindromul Fanconi*, pierzîndu-se prin urină şi glucoză şi acizi aminaţi (11).

Diagnosticul diferenţial al hipercalcemiilor şi al bolilor osoase

Constatarea unor leziuni osoase sau a unei hipercalcemii implică probleme dificile de diagnostic. O încercare de sintetizare a problemelor de diagnostic diferenţial în astfel de situaţii este prezentată în tabelul 6—2.

Modificările calciuriei şi fosfaturiei sînt mijloace adjuvante în acest diagnostic diferenţial, iar o fosfaturie asociată cu o calciurie poate indica un proces de resorbţie a mineralelor din oase, aşa cum survine în hiperparatiroidism. Trebuie arătat că eliminările urinare de calciu şi fosfaţi sînt afectate de starea funcţiei renale. O leziune tubulară poate interfera cu retroresorbţia calciului, iar o leziune glomerulară poate reduce pierderile de calciu în urină, chiar în prezenţa unei hipercalcemii. S-a descris şi o *hipercalciurie idiopatică*, fără hipercalcemie şi care poate evolua cu formarea de calculi. În funcţie de natura enzimatică a suferinţei tubilor renali se poate ajunge fie la o insuficientă eliminare a fosfaţilor (de exemplu în pseudohipoparatiroidism), fie la o pierdere excesivă a acestora (de exemplu în sindromul Fanconi). Insuficienţa renală evoluează cu retenţie de fosfaţi.

S-au imaginat diferite *teste de excreţie a fosfaţilor*, apreciindu-se clearence-ul fosfaţilor, în funcţie de clearance-ul creatinic, dar valoarea acestor teste, pentru diagnosticul diferenţial a hiperparatiroidismului, este discutabilă. Dealtfel eliminările urinare de fosfaţi depind, în mare măsură, de aportul alimentar.

Mai util pentru diagnosticul diferenţial al hipercalcemiilor pare a fi testul de *supresiune prin steroizi*, cînd, după administrarea unor doze mari de hidrocortizon (3 × 40 mg/zi, timp de 10 zile), se produce o scădere a calcemiei la valori normale, în aproape toate cazurile de hipercalcemie, cu excepţia bolnavilor suferind de hiperparatiroidism primar şi terţiar. Mecanismul intim de producere a acestui efect cortizonic este insuficient lămurit (6, 22).

Tabel 6—2

Diagnosticul diferențial al hipercalcemiilor și al unor afecțiuni ale oaselor

Starea patologică	Nivelul plasmatic de				Testul de scădere a calcemiei după administrarea de cortizon	Observații
	Ca	PO_4	Proteine	Fosfataza alcalină		
A. *Creșterea calciului legat de proteine*						
1. Deshidratare	↑	N sau ↑	↑	N		Semne clinice de deshidratare Uree ↑. Se corectează prin rehidratare
B. *Creșterea calciului ionizat*						
1. Hiperparatiroidism primar	↑	↓	N	N sau ↑	negativ	Modificările Ca și fosfaților serici sînt mascate în caz de insuficiență renală
2. Tumori maligne cu producere ectopică de hormon	↑	↓	N, (↑ în mielom)	N sau ↑ (N în mielom)	pozitiv	Manifestări date de tumoarea primitivă
3. Supradozaj de vitamina D	↑	Variabil	N	N	pozitiv	Rară. Se poate deduce din anamneză
4. Sarcoidoză	↑	Variabil	N	N	pozitiv	Rară. Manifestări clinice date de boala de bază (subfebrilități, splenomegalie)
5. Tireotoxicoză	↑	N sau ↑	N	N sau ↑	pozitiv	Doar în hipertiroidismul sever
6. Sindromul lapte-alcaline	↑	N sau ↑	N	N sau ↑	pozitiv	Foarte rar. Se poate deduce din anamneză.
C. *Boli ale oaselor fără hipercalcemie*						
1. Osteoporoză	N	N	N sau ↓	N		După imobilizări prelungite, în carența de proteine și în senilitate
2. Boala Paget	N	N	N	↑		Hipercalcemii cu caracter trecător pot surveni în imobilizări pentru fracturi osoase
3. Hipofosfatazie	N	N	N	↓		Foarte rară. Excreție de fosfoetanolamină.
4. Defect de reabsorbție tubulară a fosfaților	N	↓	N	↑		Uneori se asociază defecte în retroresorbția tubulară a acizilor aminați și a glucozei.

Bazele biochimice ale terapiei în tulburările metabolismului calciului

În hipocalcemia asimptomatică este suficient, de cele mai multe ori, administrarea de vitamină D pe cale orală, stimulîndu-se astfel absorbția de calciu din intenstin. Deficitul de calciu în oase poate fi remediat, în caz de rahitism, tot prin administrarea de vitamină D, iar procesul de remineralizare poate fi urmărit prin nivelul fosfatazei alcaline, care începe să scadă atunci cînd reacția osteoblastică a devenit eficientă. Chiar și o scădere moderată a calciului ionic ar trebui corectată pentru prevenirea cataractei. În schimb, scăderea calciului legat de proteine nu va fi tratată.

Hipocalcemiile severe din hipoparatiroidism pot fi influențate de vitamina D și mai ales de dihidrotahisterol (AT—10), care a putut înlocui pe plan terapeutic hormonul paratiroidian. În tabelul 6—3 sînt trecute efectele vitaminei D, a dihidrotahisterolului și a hormonului paratiroidian asupra metabolismului calciului și fosfaților.

Tabel 6—3

Efectele diferențiate ale vitaminei D (doze mari) dihidrotahisterolului (AT—10) și hormonului paratiroidian asupra metabolismului calciului și fosfaților (după Albright și Reifenstein)

Preparatul	Absorbția din intestin a Ca	Absorbția din intestin a P	Ca ionic seric	P seric	Excreția urinară de P	Mobilizare din oase
Vitamina D	+++	+	++	+	++	+?
Dihidrotahisterolul	++	0	+++	——	+++	0
Hormon paratiroidian	+	0	++++	———	++++	+++

+ = creștere ; — = scădere ; 0 = lipsă de efect.

În caz de tetanie, hipocalcemia trebuie tratată ca o urgență, administrîndu-se injecții intravenoase de calciu.

Tratamentul hipercalcemiei. Atunci cînd nivelul calcemiei este sub 15 mg/100 ml (7,5 mEq/1), terapia nu are un caracter de urgență. Pe cît posibil se va aplica un tratament cauzal (de exemplu îndepărtarea adenomului paratiroidian). Îndepărtarea calciului din organism poate fi obținută prin administrarea orală a fosfatului de sodiu, ceea ce duce la precipitări ale fosfatului de calciu în intestin (se administrează 100—300 ml/zi, dintr-o soluție conținînd 45 g Na_2HPO_4/l, sau 56 g K_2HPO_4/l).

Dacă calcemia atinge sau depăşeşte cifra de 15 mg/100 ml (7,5 mEq/l) se vor lua măsuri de urgenţă, care urmăresc să producă o diminuare trecătoare a calciului, în vederea prevenirii pericolului de stop cardiac.

Se pot efectua perfuzii intravenoase cu EDTA, cu chelator, sau infuzii intravenoase de fosfaţi de sodiu şi potasiu (500 ml, dintr-o soluţie conţinînd 11,5 g Na_2HPO_4 şi 2,58 g KH_2PO_4 la un litru, administrată intravenos, în picături, timp de 4—6 ore).

De notat că această terapie poate duce la precipitarea calciului şi la nivelul rinichiului, afectînd funcţia acestuia şi deci nu va fi administrată decît în stări de urgenţă.

Deficitul de fosfaţi. Hipofosfatemia

Aşa cum s-a menţionat la începutul acestui capitol, fosfaţii au şi un rol propriu, intervenind în formarea unor sisteme tampon şi intrînd în structura compuşilor macroergici.

Un adult de 70 kg conţine aproximativ 700 g fosfor; deşi peste 80% din această cantitate se găseşte în schelet, fosfaţii repartizaţi în ţesuturile moi constituie principalul anion intracelular. Apare deci logică supoziţia după care depleţia de fosfaţi ar putea juca un rol important în patologie, chiar şi independent de perturbările metabolismului calciului. Această presupunere s-a confirmat abia în ultimii ani (19, 25).

Hipofosfatemia, adică scăderea fosfaţilor serici sub 3 mg/100 ml, respectiv sub 0,8 mMoli/litru, poate surveni în cursul administrărilor parenterale de mari cantităţi de lichide lipsite de fosfaţi şi în special în urma perfuziilor intravenoase de mari cantităţi de glucoză.

Terapia comei diabetice, în care alături de glucoză şi bicarbonaţi se administrează şi insulină, creează condiţii deosebit de propice pentru instalarea hipofosfatemiei. În astfel de situaţii, alături de pierderea urinară a fosfaţilor, se produce şi o deplasare bruscă a fosfaţilor şi a glucozei din lichidul extracelular în lichidul intracelular, unde contribuie la formarea glucozo-6-fosfatului.

Sărăcirea în fosfaţi a organismului mai poate surveni în cursul vărsăturilor cronice, după aspiraţii gastrice prelungite sau după tratament de durată cu preparate antiacide, ca de exemplu gelul de hidroxid de magneziu, care fixează fosfaţii din tractul digestiv sub formă neabsorbabilă.

Alcoolismul acut şi cronic, precum şi terapia de durată cu diuretice, se pot însoţi de asemenea de o spoliere a fosfaţilor din organism. O scădere a fosfaţilor serici se întîlneşte adeseori în cursul bolilor

cronice caşectizante, în stări de denutriţie gravă (19) şi, în mod surprinzător, la obezi (14). În această ultimă situaţie, se poate presupune că hiperinsulinismul, caracteristic obezităţii, favorizează deplasarea rapidă a glucozei şi a fosfaţilor din plasmă în lichidul intracelular şi în special în celulele adipoase hipertrofiate (vezi vol. I, pag. 166 şi 186), fiind vorba mai degrabă de o modificare a repartizării fosfaţilor decît de o depleţie reală de fosfaţi.

Deficitul grav de fosfaţi se traduce pe plan clinic prin parestezii, hiperreflexie, stare de slăbiciune, ameţeli şi hiperventilaţie. În unele cazuri, suferinţa celulelor musculare, sărăcite în compuşi macroergici, ajunge pînă la fenomene de liză a miofibrilelor, cu creşterea consecutivă a creatinfosfokinazei (CPK) în ser (19).

Remarcabilă este importanta perturbare a funcţionalităţii elementelor figurate sanguine. Aşa de exemplu, deficitul fagocitozei creează o predispoziţie la infecţii, iar hematiile prezintă o fragilitate crescută, apărînd o tendinţă la anemia hemolitică. Scăderea fosfaţilor din eritrocite duce la o diminuare a formării de 2—3 difosfoglicerat, ceea ce are drept urmare o perturbare a eliberării oxigenului fixat pe hemoglobină, respectiv o deplasare la stînga a curbei de disociaţie a hemoglobinei (vezi pag. 166 din acest volum). Se ajunge în acest mod la o hipoxie tisulară, în prezenţa unei saturaţii în oxigen, relativ bune, a sîngelui. Este evident că o astfel de anomalie agravează mult starea pacienţilor cu suferinţe pulmonare şi cardiace sau care prezintă anemie (19).

Terapia hipofosfatemiilor este simplă şi ieftină şi constă din administrarea fracţionată, pe cale orală, a unui sirop cu conţinut de fosfaţi, echivalînd cu 1 g fosfor. De notat că 1 litru de lapte conţine aproximativ 1 g fosfor. În cazul nutriţiei parenterale, se va administra intravenos 20—25 mEq fosfat monopotasic pentru fiecare 1000 kilocalorii, furnizate de substanţele nutritive primite parenteral (25).

METABOLISMUL MAGNEZIULUI

Date privind fiziologia magneziului

Organismul unui subiect adult conţine aproximativ 21—33 g magneziu, din care mai mult de jumătate se găseşte sub formă de săruri complexe în oase şi are tendinţa de a se mobiliza odată cu calciul şi fosfaţii din ţesutul osos. Restul magneziului are o localizare predominant intracelulară şi se comportă, sub acest aspect, similar

cu potasiul. De notat că, din punct de vedere cantitativ, magneziul este, după potasiu, al doilea cation al lichidului intracelular. Magneziul extracelular se găsește într-o concentrație de 2—2,5 mg/100 ml (1,6—2 mEq/l), din care mai bine de 30% este legat de proteine. Se cunoaște încă foarte puțin despre mecanismele de reglare ale magnezemiei, care par a avea loc la nivelul tubilor renali și ar putea fi influențate de hormonul paratiroidian și de aldosteron.

Magneziul are un rol fiziologic important, catalizînd unele procese enzimatice, cum ar fi: transferul de ioni de fosfat și fosforilarea oxidativă, sinteza de acizi nucleici și sintezele proteice. Se știe astăzi că magneziul intervine în procesul de activare al acizilor aminați, respectiv de formare a complexelor aminoacid-AMP, care se vor fixa apoi pe acidul ribonucleic de transfer (vezi vol. I, p. 33). Magneziul are de asemenea un rol important în contracția musculară și în transmiterea influxului nervos.

Cele aproximativ 300 mg de magneziu ingerate zilnic de un adult, mai ales sub formă de verdețuri, pește și carne, depășesc de regulă necesitățile de 200—250 mg. Există și părerea că, în condițiile unui consum crescut de Ca, vitamină D și alcool (care favorizează pierderile de magneziu), necesitățile optime de magneziu ar trebui stabilite la valori de 500—700 mg/zi (15). La copii, în perioada de creștere rapidă, se recomandă 10—20 mg/kg/zi (16,17).

Modificările patologice ale metabolismului magneziului

Deficitul experimental de magneziu la șobolani produce: 1) o scădere a magneziului din ser și din eritrocite; 2) focare necrotice diseminate în jurul vaselor mici; 3) depuneri de calciu în tubii renali și 4) creșterea conținutului total de calciu în organism. La vite s-a descris un deficit spontan de magneziu, evoluînd cu fenomene de retanie și convulsii. În încercările efectuate pe doi bărbați voluntari adulți, care au primit timp de 24 de zile un regim sărac în magneziu, nu s-a constatat însă nici o manifestare patologică (15). Aceste observații limitate în timp și efectuate pe adulți sănătoși nu exclud însă existența unor sindroame clinice cauzate de o spoliere a magneziului din organism și consecutive unei exagerări patologice a pierderii acestui cation. Pierderi importante de magneziu, cu hipomagneziemie consecutivă, pot surveni în diarei și, uneori, în hipoparatiroidism. Hipomagneziemia poate însoți o hipopotasemie în hiperaldosteronismul primar și după diuretice (19, 26).

Hiperaldosteronismul secundar al bolnavilor cu insuficienţă cardiacă, asociat adeseori cu terapia diuretică, realizează condiţii deosebit de prielnice pentru instalarea unui deficit de magneziu, care însoţeşte de regulă hipopotasemia. Într-o astfel de eventualitate, apariţia aritmiilor şi a fenomenelor toxice la digitalice pare a fi favorizată nu numai de hipopotasemie dar şi de carenţa de magneziu (26). Scăderi ale magneziemiei s-au descris şi în cursul remisiunii postterapeutice a unei come diabetice, precum şi în numeroase cazuri de ciroză alcoolică, în special în cursul crizelor de delirium tremens (15, 19).

În timp ce la adult, deficitul de magneziu se întîlneşte rar, această anomalie survine relativ frecvent în clinica pediatrică (16, 17). Apariţia deficitului de magneziu în prima copilărie se datoreşte următoarelor particularităţi ale acestei vîrste:

1. disgravidia poate duce la o sărăcire în magneziu a organismului matern, cu repercusiuni asupra capitalului de magneziu al nou născutului;

2. creşterea rapidă a copilului în primele luni de la naştere, respectiv sinteza accelerată de proteine caracteristică acestei perioade, implică necesităţi crescute de magneziu, cation care intervine în reglarea sintezelor proteice;

3. laptele este un aliment relativ sărac în magneziu;

4. tulburările gastrointestinale apar relativ frecvent la această vîrstă şi pot precipita o hipomagneziemie, mai ales dacă se administrează copilului perfuzii cu lichide lipsite de magneziu;

5. terapia cu calciu şi doze mari de vitamina D favorizează pierderile urinare de magneziu.

Mecanismele fiziopatologice prin care se realizează carenţe de magneziu constau în special în exagerarea pierderilor digestive şi urinare. Este interesant de notat faptul că după îndepărtarea chirurgicală a unui adenom paratiroidian se dezvoltă adeseori fenomene de tetanie care nu cedează la calciu, dar sînt bine influenţate de administrarea sărurilor de magneziu. Se bănuieşte că, în astfel de cazuri, hiperparatiroidismul de durată a produs o depleţie a rezervelor de magneziu, care s-a mobilizat din oase sub acţiunea parathormonului, împreună cu calciul şi fosfaţii, şi a fost eliminat apoi prin urină. Este posibil ca şi în hiperparatiroidismul secundar, care survine în rahitism, să se producă acelaşi fenomen de sărăcire în magneziu (15).

Încetarea bruscă a hiperparatiroidismului secundar, în urma administrărilor de vitamină D, poate să favorizeze apariţia tetaniei şi prin intermediul deficitului de magneziu, instalat între timp. Se

pare că manifestările de tetanie din deficitul de magneziu sînt şi ele favorizate de alcaloză.

Manifestările clinice ale deficitului de magneziu sînt deosebit de polimorfe şi relativ nespecifice. Alături de manifestări de ordin general cum ar fi anorexie, greaţă şi vărsături, ameţeli, apatie şi depresie, bolnavii prezintă simptome neuromusculare, constînd din slăbiciune şi crampe musculare, hiperreflexie, parestezii şi, uneori, chiar stări convulsive.

Recent s-au descris cazuri de hipomagneziemie, evoluînd cu hiperexcitabilitate neuro-musculară şi boală tromboembolică (7). Deşi magneziul are rol în procesul de dezagregare a plăcuţelor sanguine, nu există argumente suficiente pentru stabilirea unei legături între magneziu şi predispoziţia la tromboze. Încercările de a corela magneziemia cu perturbarea metabolismului lipidic nu au depăşit încă etapa analitică.

Recunoaşterea deficitului de magneziu este îngreunată de faptul că nivelul magneziului seric nu reflectă în mod fidel capitalul de magneziu al organismului. Constatarea unei concentraţii mult scăzute a magneziului seric (sub 1,2 mEq/l) confirmă diagnosticul, dar un nivel seric normal al acestui cation nu exclude cu certitudine deficitul de magneziu. Măsurarea magneziului muscular implică reale dificultăţi tehnice şi nu aduce un aport mult mai substanţial. Se discută valoarea determinărilor de magneziu din eritrocite. În mod normal, magneziul eritrocitar este de 4—6 mEq/litru masă eritrocitară, scăzînd, în multe cazuri cu deficit sever de magneziu, pînă la valori sub 2,5 mEq/l.

Întrucît conţinutul de magneziu al organismului este în mare măsură reglat de controlul, la nivel renal, al excreţiei, scăderea magneziuriei sub valorile de 50 mg/24 h (4,1 mEq/24 h), la un adult, sau sub 1 mg/kg corp/24 h, la sugari şi copii, denotă un răspuns compensator al rinichiului la deficitul de magneziu. S-au imaginat, pe această bază, teste de magneziurie provocată, arătîndu-se că, în mod normal, mai bine de 80% a unei doze intravenoase de 6 mg Mg/kg corp se elimină prin urină în decurs de 24 h, în timp ce în deficitul de magneziu există o tendinţă de reţinere a acestui cation şi la reducerea eliminărilor urinare (26). Bineînţeles că acest test este lipsit de valoare la bolnavii cu insuficienţă renală sau la cazurile în care deficitul de magneziu se datoreşte tocmai unei pierderi a controlului renal al eliminărilor de magneziu.

Diagnosticul deficitului de magneziu este completat de explorări electrofiziologice, cum ar fi electromiograma, electronistagmograma şi electroencefalograma, care indică, de regulă, o stare de hiperexcitabilitate (16).

Amendarea spectaculară a manifestărilor clinice și electrice după administrarea sărurilor de magneziu constituie un alt argument pentru diagnosticul deficitului de magneziu. Întrucît sulfatul de magneziu administrat intravenos are și o acțiune de combatere a edemului cerebral, acțiunea specifică a ionului de magneziu asupra fenomenelor cerebrale trebuie privită cu multă rezervă. De notat că administrarea de calciu agravează manifestările clinice din hipomagneziemie (19, 26).

La bolnavii în stare critică, se recomandă administrarea intravenoasă lentă a 2—4 g $MgSO_4$ în soluție glucozată. La sugari și copii se administrează $MgSO_4$ 20%, în doză de 0,4 ml/kg corp/zi. Dacă starea tubului digestiv o permite, se poate administra pe cale orală la adult, 300 mg Mg (de ex. 3 × 1 g lactat de magneziu).

În lipsa lactatului de Mg se poate folosi o soluție conținînd 20 g (200 mEq) clorură de magneziu ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) la 100 ml apă, din care se administrează pînă la 40 ml/zi, în doze fracționate de 5—10 ml. La copii, doza este de 8—10 mg Mg/kg/zi.

De o deosebită importanță teoretică și practică este observația că în unele denutriții grave ale copiilor, refacerea metabolismului proteic este mult accelerată dacă se administrează și săruri de magneziu (15).

Contraindicațiile administrării de magneziu sînt miastenia și mai ales insuficiența renală. Dealtfel aceasta din urmă constituie singura situație în care se constată o creștere a magneziemiei, putîndu-se ajunge la valori de 8—10 mEq/l. Avîndu-se în vedere complexitatea fenomenelor patologice care se petrec în uremie și multitudinea substanțelor reținute, este greu de precizat în ce măsură contribuie hipermagneziemia la dezvoltarea unor simptome ale uremiei, cum sînt stupoarea, pierderea reflexelor și coma.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. ALBRIGHT, F. and REIFENSTEIN, H. Cr. Jr., *The parathyroid glands and metabolic Bone Disease,* Ed. Williams and Wilkins Comp., Baltimore, 1950.
1.b. AVRAM, M.M., FEINFELD, D.D. and HUATUCO, A.H., *Search for the uremic toxin. Decreased motor nerve velocity and elevated parathyroid hormone in uremia,* The New. Engl. J. Med., 1978, 298, 1000.
2. BARTER, F.C., *Hypophosphatasia,* in Stanbury, J.B., Wyngaarden, J.B. and Fredrickson, D.S., *The metabolic basis of innerited disease,* Ed. Mc Graw-Hill, New York, 1972.
3. CHASE, L. R. and AURBACH, G. D., *Parathyroid function and the renal excretion of 3—5-adenylic acid,* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1967, 58, 518.
4. CHASE, L. R., MELISON, G. L., AURBACH, G. D., *Pseudohypoparathyroidism: Defective excretion of 3'—5' AMP in response to parathyroid hormone,* J. Clin. Invest, 1969, 48, 1832.
4 b. COOPER, C. W., SCHWESINGER, W. H., MAHGOUB, A. M. and ONTJES, D. A., *Thyrocalcitonin: stimulation of secretion by pentagastrin,* Science, 1971, 172, 1238.
5. DE LUCA, H. F., *Vitamin D metabolism, recent developments,* Triangle, 1973, 12, 111.
6. DENT, C. E., WATSON, L., *The hydrocortison test in primary and tertiary hyperparatiroidism,* Lancet, 1968, 2, 662.
7. DUPONT, B., PONY, J. C., BIHAN, G. le, LEBORGUE, P., *Maladie Phlébo-Thrombosante et Magnésium,* Sem Hôp. Paris, 1969, 48, 3048.
8. FOURMAN, P., and ROYER, P., *Calcium metabolism and the bone,* Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1968.
9. GOZARIU, L., FLORESCU, O., *Calcitonin and glucose uptake by isolated rat diafragm,* Horm. Metab. Res., 1973, 5, 145.
10. GOZARIU, L., DASCĂLU, RODICA, *Calciul în organismul uman,* Editura Dacia, Cluj-Napoca, 1975.
11. HOFFMAN, W. S., *The Biochemistry of clinical medicine,* Year Book Medical Publisher Inc., Chicago, 1970.
12. KLEIN, L., CURTISS, P. H., *Urinary hydroxiproline as an index of bone metabolism* in Pearson, H.O., Joplin, G.F., *Dynamic studies of metabolic bone disease,* Ed. Blackwell, Oxford, 1964.

13. KRANE, S. M., MUNOZ, A. J., HARRIS, E. D. Jr., *Collagen-like fragments: Excretion in urine of patients with Paget's disease of bone,* Science, 1967, 157, 713.
14. LINDGÄRDE, F. and TRELL, E., *Serum Inorganic Phosphate in middle-aged men. I. Inverse relation to body weight,* Acta Med. Scand, 1977, 202, 307.
15. LIVINGSTON, D.M., WACKER, W. E. C., *Le role du magnésium en physiologie neuromusculaire,* in *Metabolisme de l'eau et des électrolytes,* Triangle, 1971, 10, 4, 169.
16. MIU, N. *Magneziul în patologia copilului,* Teză de doctorat, I.M.F. Cluj-Napoca, 1973.
17. MIU, N., MĂRGINEANU, O., MARTINECZ, V., *Tratamentul cu magneziu în unele sindroame produse prin deficit magnezian,* Viața Medicală, 1972, 19, 657.
18. SIPPLE, J. H., *Association of pheocromocytoma with carcinoma of thyroid gland,* Am. J. Med., 1961, 31, 163.
19. STUDER, H., *Wenig beobachtete Ionen: Magnesium und Phosphor,* Schweiz. med. Wschr., 1978, 108, 434.
20. SUNDERMAN, F. W. and SUNDERMAN, F. W. Jr., *Evaluation of Thyroid and Parathyroid functions,* Ed. J. B. Lippincot Company, Philadelphia, Montreal, 1963.
21. TREMBLAY, R. E., ANSELL, J. S., *Carcinoma of the kidney simulating hyperparatiroidism,* J. Urol., 1964, 91, 10.
22. ZILVA, J. F., PANNALL, P. R., *Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment,* Lloyd-Luke Medical Books, London, 1972.
23. WASSERMAN, R. H., TAYLOR, A. N., *Vitamina D_3 induced calcium binding protein in chick intestinal mucosa,* Science, 1966, 152, 791.
24. WINEGARD, S., *Calcium and striated muscle,* in Colmar C.L., Bronner, T. *Mineral Metabolism,* Ed. Academic Press, New York, 1969.
25. *** *Hypophosphatemia. Leading article,* Lancet, 1977, II, 122.
26. *** *Magnesium deficiency. Leading article,* Lancet, 1976, I, 523.

1. Secreția de hormon paratiroidian este stimulată de:
   A. Scăderea calcemiei
   B. Scăderea fosfaților serici
   C. Ambele procese
   D. Nici unul

2. Hormonul paratiroidian acționează prin:
   A. Stimularea osteoclaștilor
   B. Reducerea reabsorbției tubulare a fosfaților
   C. Ambele procese
   D. Nici unul

3. Creșterea fosfatazei alcaline sugerează:
   A. O hiperexcitabilitate neuromusculară
   B. Un deficit al matricei proteice a osului
   C. O reacție osteoblastică
   D. O afecțiune a măduvei osoase

4. Calcitonina este:
   A. Un hormon care scade nivelul calcemiei
   B. O enzimă care scindează esterii organici ai acidului fosforic
   C. Un complex fosfocalcic ce se depune în oase.
   D. O proteină care favorizează transportul calciului prin mucoasa intestinală.

5. Stabiliți corespondența între modificările umorale arătate mai jos și starea patologică pe care o sugerează:

A. Calciu seric 10 mg/100 ml (5 mEq/1) fosfați serici 4 mg/100 ml (2,32 mEq/1)	I. Hipoparatiroidism
B. Calciu seric 6 mg/100 ml (3 mEq/1) fosfați serici 8 mg/100 ml (4,7 mEq/1)	II. Normal

C. Calciu seric 14 mg/100ml (7 mEq/1) fosfaţi serici 2 mg/100 ml (1,16 mEq/1) — III. Hiperparatiroidism primar sau terţiar

D. Calciu seric 8,5 mg/100 ml (4,25 mEq/1) fosfaţi serici 2,6 mg/100 ml (1,5 mEq/1) — IV. Deficit de vitamina D (rahitism)

6. Stabiliţi corespondenţa între modificările fosfatazei alcaline serice şi starea patologică:

A. Valori normale (de ex. 3 U Bodansky sau 7 U K.A. sau 33 mU/ml) în prezenţa unei hipocalcemii. — I. Tetanie paratireoprivă

B. Valori moderat crescute (de ex. 20 U Bodansky sau 48 U K.A. sau 220 mU/ml) în prezenţa unei hipercalcemii — II. Adenom al paratiroidei

C. Valori crescute (de ex. 40 U Bodansky sau 90 U K.A. sau 440 mU/ml) în prezenţa unei hipocalcemii — III. Boala lui Paget

D. Valori mult crescute (de ex. 100 U Bodansky sau 240 U K.A. sau 1100 mU/ml) în prezenţa unei calcemii normale. — IV. Rahitism

7. Modificările calcemiei şi fosfatemiei din hiperparatiroidismul primar pot fi mascate de:
A. Fracturi osoase
B. Insuficienţă renală
C. Ambele procese
D. Nici unul

8. Pericolul major în caz de hipercalcemie de peste 15 mg/100 ml este:
A. Oprirea inimii
B. Insuficienţa renală
C. Hipotonia musculaturii intestinale.

9. Tratamentul de urgenţă în criza de tetanie paratireoprivă constă în:
A. Administrarea de vitamina D
B. Administrarea de hormon paratiroidian
C. Administrarea intravenoasă de calciu

10. Administrarea dozelor mari de hidrocortizon nu reuşeşte să deprime nivelul crescut al calciului seric în caz de:

A. Adenom al paratiroidelor
B. Supradozaj de vitamina D
C. Sarcoidoză
D. Tireotoxicoză

11. Administrarea de hormon paratiroidian *nu* produce o creştere marcată (de cel puţin 5 ori) a eliminărilor urinare de fosfaţi în caz de:

A. Hipoparatiroidism
B. Subiecţi normali
C. Pseudohipoparatiroidism
D. Toate aceste condiţii
E. Nici una

12. În hiperparatiroidismul secundar se întîlneşte frecvent:

A. O creştere a calcemiei
B. O creştere exprimată a fosfatazei alcaline
C. Ambele modificări
D. Nici una

13. Stabiliţi corespondenţa între următoarele semne de laborator şi stările patologice în care pot fi constatate:

A. Eliminare urinară crescută de fosfoetanolamină	I. Sindrom Fanconi
B. Eliminare urinară de fragmente peptidice conţinînd hidroxiprolină	II. Boala lui Paget
C. Pierdere urinară de fosfaţi, acizi aminaţi şi glucoză	III. Hipofosfatazie
D. Nivel crescut de calcitonină şi catecolamine	IV. Sindrom Sipple

14. Scăderea magneziului seric poate fi întîlnită în:

A. Diarei cronice
B. Hiperaldosteronism primar
C. Cirozele hepatice ale alcoolicilor
D. Toate aceste situaţii
E. Nici una

VII. ECHILIBRUL ACIDO-BAZIC. GAZELE DIN SÎNGE

Reacţiile enzimatice şi implicit procesele biologice depind în mare măsură de concentraţia ionilor de hidrogen din mediu. Concentraţiile de hidrogen-ioni (H^+) în lichidul extracelular compatibile cu viaţa sînt cuprinse între 0,00002 mEq/l (pH 7,70) şi 0,0001 mEq/l (pH 7,00), iar concentraţia normală a H^+ în plasma arterială este de 0,00004 mEq/l (pH 7,4). Oscilaţii cuprinse între pH 7,35 şi pH 7,45 sînt considerate ca fiind în limite fiziologice (5, 6, 7).

Sursa de H^+ este reprezentată de procesele de dehidrogenare prin care hidrogenul este desprins de pe diverse substrate. De obicei, orice exces de H^+ rezultat din aceste procese este transformat în apă atunci cînd există un aport suficient de oxigen. În cursul unui efort fizic se pot elibera cantităţi crescute de ioni de hidrogen care pot depăşi, pentru o perioadă de timp, aportul de oxigen necesar oxidării H^+ spre H_2O. În astfel de situaţii, organismul previne acumulările de H^+ prin a) mecanisme fizico-chimice, reprezentate prin sistemele tampon ale umorilor, şi b) prin mecanisme biologice care duc la eliminarea excesului de ioni de hidrogen.

SISTEMELE TAMPON

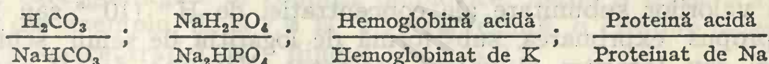
Mecanismul de acţiune al sistemelor tampon

Pentru înţelegerea mecanismului de acţiune a sistemelor tampon şi a noilor date furnizate prin determinările de pH cu ajutorul microechipamentului Astrup este necesară o revizuire a unor definiţii în lumina concepţiei moderne a lui Bronsted (1, 5).

Un *acid* este o substanţă care cedează H^+, iar o *bază* este o substanţă sau un ion care acceptă cu uşurinţă H^+. Noţiunea de bază nu este identică cu cea de *alcali*, prin care se înţeleg substanţe capabile să cedeze ioni de hidroxil (OH^-). Astfel, în timp ce acidul

carbonic (H_2CO_3) poate ceda H^+, fiind deci un acid, ionul bicarbonat (HCO_3^-) este o bază deoarece acceptă H^+, transformîndu-se în H_2CO_3 În această concepţie ionul amoniu (NH_4^+) este un acid, fiindcă poate ceda H^+, iar amoniacul (NH_3) este o bază întrucît poate accepta H^+ trecînd în NH_4^+.

Un *acid puternic*, de exemplu acidul clorhidric, disociază intens în soluţie apoasă; cu alte cuvinte produce mulţi H^+. *Un acid slab* disociază puţin şi deci eliberează puţini H^+. În schimb, sarea unui acid slab cu un cation reactiv (de exemplu Na^+ sau K^+) disociază intens şi deci eliberează numeroase baze, adică radicali anionici capabili să accepte H^+ din mediu. *Procesul de tamponare* constă în înlocuirea unui acid puternic de către unul slab, avînd drept consecinţă menţinerea relativ constantă a concentraţiei ionilor de hidrogen. Sistemele tampon sînt alcătuite dintr-un amestec al unui acid slab şi o sare a acestui acid slab cu un cation reactiv. Astfel de sisteme tampon la nivelul sîngelui sînt reprezentate de:



$$\frac{H_2CO_3}{NaHCO_3}; \quad \frac{NaH_2PO_4}{Na_2HPO_4}; \quad \frac{\text{Hemoglobină acidă}}{\text{Hemoglobinat de K}}; \quad \frac{\text{Proteină acidă}}{\text{Proteinat de Na}}$$

În vederea explicării modului de acţiune a sistemelor tampon redăm exemplul ilustrativ al adaosului de acid clorhidric la sistemul tampon acid carbonic/bicarbonat:

$HCl + NaHCO_3 \rightarrow H_2CO_3 + NaCl$. Aşadar acidul puternic se transformă într-o sare de sodiu, iar H^+ sînt captaţi de anionul bicarbonat, formînd acid carbonic. În concepţia lui Bronsted, ionul HCO_3^- este o bază, fiind acceptor de H^+. Acidul carbonic disociază puţin, gradul de disociaţie fiind diminuat şi de prezenţa anionilor de bicarbonat care provin prin disocierea sării tampon. Se ştie astfel că în baza legii acţiunii maselor:

$$\frac{[H_2CO_3]}{[HCO^-][H^+]} = K; \quad \text{sau generalizat} \quad \frac{[AH]}{[A^-][H^+]} = K$$

Creşterea concentraţiei A^- va deplasa sensul reacţiei $AH \rightleftharpoons A^- + H^+$ spre stînga, diminuînd disociaţia şi deci eliberarea de H^+. În acest fel, „şocul" de H^+ produs prin adaosul unui acid puternic este amortizat de sistemul tampon care captează H^+ sub formă inactivă în acceptorul de H^+ (baza).

Ecuația lui Henderson și Hasselbach. Noțiunea de pH

Se știe că disociația reversibilă a acidului carbonic: $H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$ atinge un echilibru, după care viteza de disociație și de refacere a acidului carbonic rămîne constantă (K) conform formulei:

$\frac{[H_2CO_3]}{[H^+][HCO_3^-]} = K$; această egalitate mai poate fi scrisă și:

$$[H^+] = K\frac{[H_2CO_3]}{[HCO_3^-]}$$

Întrucît concentrația ionilor de hidrogen în lichidele biologice este foarte joasă (de ordinul 0,0001 mEq/l sau 0,0000001 molar sau 10^{-7}) s-a convenit, la propunerea lui Soerensen, ca măsura acestei concentrații să fie exprimată de o valoare logaritmică. Pentru cei mai puțin familiarizați cu noțiunile de matematică reamintim că $\log_{10}$ a unui număr reprezintă puterea la care trebuie ridicat 10 pentru a produce acel număr. De exemplu $\log 100 = \log 10^2 = 2$; $\log 10.000.000 = \log 10^7 = 7$. În cazul valorilor subunitare ale concentrației de H^+ (10^{-n} sau $1/10^n$) s-a propus exprimarea sub formă de logaritm de semn schimbat (—log) sau logaritm al valorii reciproce. *Noțiunea de pH* poate fi deci definită fie ca: a) Logaritmul negativ al concentrației ionilor de hidrogen sau b) logaritmul valorii reciproce a concentrației ionilor de hidrogen $\left(\text{valoarea reciprocă a lui n fiind } \frac{1}{n}\right)$. Prin urmare $pH = -\log [H^+]$ sau $pH = \log \frac{1}{[H^+]}$; de exemplu $[H^+] = 0{,}000.0001 = 10^{-7} = \frac{1}{10^7}$. Aplicînd noțiunile de mai sus și efectuînd logaritmii valorilor reciproce la formula:

$$[H^+] = K\frac{[H_2CO_3]}{[HCO_3^-]}$$

se ajunge la $pH = \log \frac{1}{[H^+]} = \log\left(\frac{1}{K} \times \frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}\right)$ respectiv:

$pH = \log \frac{1}{K} + \log \frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$. Notînd $\log \frac{1}{K}$ cu pK se ajunge la expresia:

$$pH = pK + \log \frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$$

care reprezintă *ecuaţia lui Henderson şi Hasselbach* şi este valabilă pentru orice sistem tampon sub forma generalizată:

$$pH = pK + \log \frac{[A^-]}{[AH]}$$

În cazul tamponului bicarbonat/acid carbonic, pK = 6,1 deci $pH = 6,1 + \log \frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$, atunci cînd raportul între bicarbonat şi acid carbonic este de 20 (de 20 de ori mai mult bicarbonat decît acid carbonic) şi ţinînd cont de faptul că log 20 = 1,3, pH = 6,1 + 1,3 = = 7,4. Cu alte cuvinte pentru ca să existe un pH normal de 7,4, raportul între bicarbonat şi acid carbonic trebuie să fie de 20/1. Ori de cîte ori creşte numitorul (acid carbonic) sau scade numărătorul (bicarbonatul) acestui raport se ajunge la o scădere a pH şi deci la o deviere spre latura acidă şi, invers, scăderea acidului carbonic şi creşterea bicarbonatului duce la o creştere de pH şi deci la o deviere spre latura alcalină. Valorile logaritmice prin care se exprimă pH pot crea o falsă impresie asupra gravităţii modificărilor în concentraţia de H^+ care pot apare în condiţii patologice. Astfel o scădere a pH cu 0,3 (de exemplu, de la 7,4 la 7,1) reprezintă o creştere la valori duble a concentraţiei H^+, fiindcă log 2 = 0,3.

Acidoza produsă de o creştere a acidului carbonic se numeşte acidoză respiratorie, iar cea produsă prin scăderea bicarbonaţilor poartă numele de acidoză metabolică. Alcaloza produsă prin scăderea acidului carbonic este definită ca o alcaloză respiratorie, iar cea cauzată de o creştere a bicarbonaţilor se consideră ca fiind o alcaloză metabolică (5, 6, 7, 10). Înţelegerea acestor noţiuni va fi uşurată de cunoaşterea mecanismelor biologice de reglare a echilibrului acido-bazic şi a rolului jucat de funcţia respiratorie în acest proces.

MECANISME BIOLOGICE DE REGLARE A pH. HOMEOSTAZIA ACIDO-BAZICĂ

Din cele arătate mai sus a reieşit că sistemele tampon pot transforma un acid puternic într-un acid slab, care disociază puţin şi deci concentraţia sau mai bine zis activitatea ionilor de hidrogen rămîne mai mult sau mai puţin constantă, în ciuda introducerii în sistem a unor noi cantităţi de H^+. Evident că procesul de tamponare nu înseamnă şi o îndepărtare a H^+ care rămîn în organism fixaţi pe

acceptori (baze). Sistemele tampon constituie deci doar o măsură temporară, iar acumularea continuă de H^+ poate duce la depăşirea capacităţii de tamponare şi la o modificare bruscă a pH-ului. Organismul posedă însă capacitatea de a transforma H^+ în H_2O sau de a-i îndepărta prin rinichi sau tubul digestiv. La aceste procese complexe de menţinere a echilibrului acido-bazic participă toate celulele organismului şi în special hematiile, plămînii şi rinichii (2, 5, 6, 7).

Rolul metabolismului celular

Oxidările celulare reprezintă un mecanism important de înlăturare a H^+, ducînd la formarea de apă de oxidaţie. Perturbarea acestor oxidări celulare sau depăşirea capacităţii sistemelor enzimatice implicate în fosforilarea oxidativă, de exemplu, în cursul unui efort muscular intens sau a producerii de corpi cetonici, duce la o acumulare de H^+. De notat că proteinele celulare pot acţiona ca sisteme tampon chiar la acest nivel. Ionii de hidrogen neoxidaţi difuzează însă din celule în lichidul extracelular unde vor fi tamponaţi de către sistemele tampon extracelulare şi, în cele din urmă, eliminaţi (2, 5, 6, 7).

Rolul eritrocitelor şi al plămînilor. Transportul de CO_2 în sînge

Aproximativ 200 ml CO_2 se elimină prin plămîni în decurs de un minut în condiţii de repaus şi evident cantităţi mult mai mari se vor elimina în cursul efortului. Considerîndu-se că CO_2 eliminat poate exista în sînge sub formă de acid carbonic, se poate aprecia că aceste eliminări echivalează cu aproximativ 12.500 mEq de H^+ în decurs de 24 de ore.

În tabelul 7—1 sînt trecute concentraţiile diferitelor gaze în sîngele arterial şi venos.

Aşa cum reiese din tabelul 7—1, cu fiecare trecere prin ţesuturi, 100 ml sînge preiau 5 ml CO_2 pe care îl vor ceda la nivelul alveolelor pulmonare. Se mai poate observa din acelaşi tabel că transportul de CO_2 prin sînge se realizează sub trei forme diferite: 1) o mică cantitate de CO_2 se găseşte dizolvată putînd trece în acid carbonic conform reacţiei: $CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3$; 2) o formă combinată cu proteinele şi în special cu hemoglobina, sub formă de compuşi carbaminici: $HbNH_2 + CO_2 \rightleftharpoons HbNHCOOH$; 3) sub formă de bicarbonaţi în combinaţie cu cationii de sodiu şi de potasiu.

Tabel 7–1

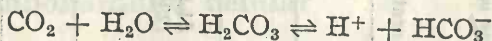
Conținutul în gaze al sîngelui arterial și venos. După Ganong (1971) cu unele modificări

Gaz	ml/100 ml sînge conținînd 15 g hemoglobină			
	Sînge arterial PO_2 95 mm Hg PCO_2 40 mm Hg Hemoglobina saturată 97%		*Sînge venos* PO_2 40 mm Hg PCO_2 46 mm Hg Hemoglobina saturată 75%	
	Dizolvat	Combinat	Dizolvat	Combinat
O_2	0,29	19,5	0,12	15,1
CO_2	2,7–3 (1,2–1,3 mEq/l)	47,0 (20,9 mEq/l) { carbaminic 3 (1,3 mEq/l), bicarbonați 44 (19,6 mEq/l) }	3–3,5 (1,3–1,35 mEq/l)	51,5 (23 mEq/l) { carbaminic 4 (1,8 mEq/l), bicarbonat 47,5 (21,2 mEq/l) }
N_2	1,04	0	1,04	0

De notat că în sîngele integral concentrația de CO_2 total este cu ceva mai scăzută decît în plasmă, datorită conținutului mai scăzut de bicarbonați în hematii (aproximativ 36 volume/100 ml hematii sau 16 mEq/l). Se știe că plasma arterială conține 57–63 volume de CO_2 total la 100 ml (aproximativ 27 mEq/l), din care 55–60 volume/100 ml (24–26 mEq/l) sub formă de bicarbonat și aproximativ 3 ml (1,3 mEq/l) sub formă de CO_2 dizolvat. Raportul de 20:1 între bicarbonați și acidul carbonic, implicat de calculul pH-ului pe baza formulei lui Henderson și Hasselbach, se referă la plasmă. Cantitatea de CO_2 legată sub formă carbaminică în plasmă este neglijabilă.

Deşi plasma conţine mai bine de două treimi din CO_2 total din sînge (vezi legenda tabel 7—1), eritrocitele au un rol esenţial în acest transport, datorită conţinutului lor în anhidrază carbonică şi în hemoglobină, precum şi datorită unor particularităţi ale membranei eritrocitelor. În condiţii normale, această membrană este permeabilă pentru H^+, HCO_3^- şi Cl^- şi practic impermeabilă pentru Na^+ şi K^+.

Anhidraza carbonică catalizează reversibil reacţia de formare a acidului carbonic din CO_2 şi H_2O. Acidul carbonic format poate apoi disocia punînd în libertate H^+ şi ioni de bicarbonat:



$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$$

Reacţia arătată mai sus poate avea loc şi spontan, dar anhidraza carbonică o accelerează de peste 100 de ori. Este important de ştiut că, la nivelul ţesuturilor, unde presiunea parţială a CO_2 este mai crescută ($PCO_2 = 46$ mm Hg), reacţia este deplasată spre dreapta, adică spre formarea de acid carbonic, iar la nivelul plămînilor, unde PCO_2 scade la valori de 40 mm Hg, reacţia este împinsă spre stînga, adică spre eliberarea de CO_2. Acest gaz difuzează apoi în alveole.

Cantităţi importante de anhidrază carbonică se mai găsesc şi în celulele parietale ale mucoasei gastrice, unde joacă un rol important în procesul de secreţie a acidului clorhidric, precum şi în celulele tubilor renali, unde favorizează procesul de eliminare urinară a H^+ (4, 7).

Hemoglobina din eritrocite contribuie, prin unele proprietăţi fizico-chimice, la tansportul de CO_2. S-a arătat astfel că oxihemoglobina formată la nivelul plămînilor este un acid de aproximativ 40 de ori mai puternic decît hemoglobina redusă. Aceasta face ca la nivelul ţesuturilor, hemoglobina redusă să-şi valideze grupările aminice şi să formeze cu uşurinţă compuşi carbaminici, care apoi se desfac la nivelul plămînilor, unde hemoglobina se oxigenează şi devine mai acidă. În acest fel, aproximativ 20% din CO_2, preluat la nivelul ţesuturilor, este transportat la plămîni sub formă de compuşi carbaminici, în care CO_2 formează o legătură labilă cu hemoglobina.

Modificările de aciditate ale hemoglobinei, în funcţie de gradul său de oxigenare, joacă un rol important şi în procesul de formare a bicarbonaţilor plasmatici în cadrul fenomenului de membrană a lui Hamburger (5, 6, 7).

Fenomenul de membrană a lui Hamburger. Deplasarea ionilor de clor. Fenomenele care au loc în interiorul eritrocitelor ca şi permeabilitatea selectivă a membranei eritrocitare pentru diverşii electroliţi explică în mare măsură modul în care CO_2, format în ţesuturi, este transformat în bicarbonaţi de sodiu. Aceste fenomene descrise de Hamburger sînt prezentate schematic în fig. 7—1 şi 7—2.

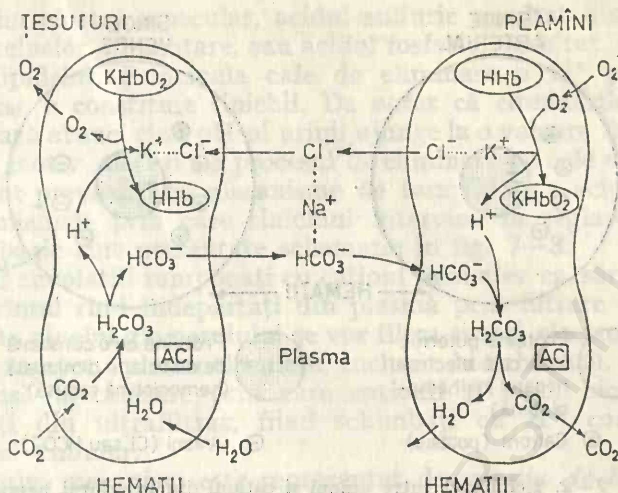


Fig. 7—1. **Fenomenul de membrană a lui Hamburger**
$KHbO_2$ = oxihemoglobinat de potasiu
HHb = hemoglobină redusă; AC = anhidrază carbonică.

La nivelul țesuturilor, creșterea presiunii parțiale a CO_2 duce la deplasarea reacției, catalizate de anhidraza carbonică, înspre formarea de acid carbonic în hematii care apoi disociază în anioni de bicarbonat și H^+. Totodată, oxihemoglobina cedează oxigenul, iar hemoglobina redusă, care rezultă și care are o constantă de disociere de 40 de ori mai mică, își micșorează sarcinile electronegative și pierde parțial capacitatea de a fixa potasiul sub formă de hemoglobinat. Membrana eritrocitară este impermeabilă pentru sodiu și potasiu, dar este permeabilă pentru ionii Cl^-, HCO_3^- și H^+. Așa se face că, în scopul menținerii egalității electrice, respectiv a neutralizării sarcinilor pozitive, reprezentate de ionii de K^+ eliberați din hemoglobinat, ionul Cl^- pătrunde în eritrocite. Această deplasare face ca, în eritrocitele sîngelui venos, conținutul de clor să fie semnificativ mai ridicat decît în eritrocitele sîngelui arterial. În urma migrării clorului în eritrocite, rămîn liberi în plasmă ioni de Na^+ care, așa cum s-a arătat mai sus, nu pot difuza în eritrocite. În schimb, anionul bicarbonat iese din eritrocit și formează în plasmă bicarbonatul de sodiu. În ultimă instanță, prin acest mecanism, o bună parte a CO_2, produs în țesuturi și trecut prin eritrocite, ajunge în plasmă sub formă de bicarbonat de sodiu.

La nivelul plămînilor crește presiunea parțială a O_2 și scade presiunea parțială a CO_2 (vezi tabel 7—1). Hemoglobina fixează O_2,

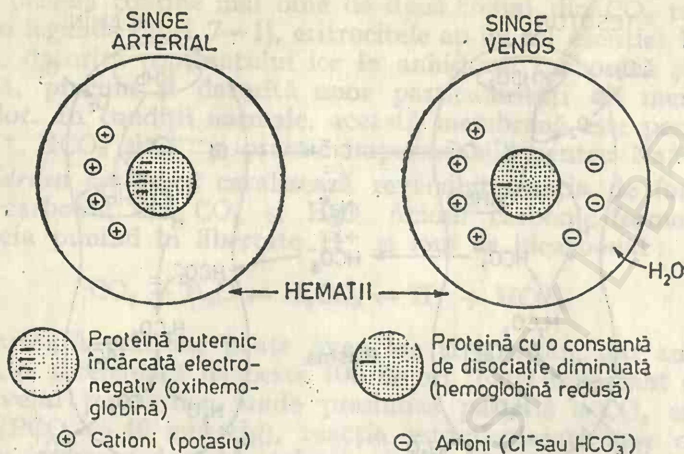


Fig. 7—2. Echilibrul între anioni și cationi din interiorul hematiilor în sîngele arterial și venos. Proteina poate avea mai multe sarcini pe o singură moleculă, în timp ce ionii de bicarbonat și clor au cîte o singură sarcină. Din acest motiv în hematiile sîngelui venos, drept consecință a fenomenului de membrană a lui Hamburger, se vor găsi mai multe particule osmotic active. Ca urmare a creșterii presiunii osmotice, apa va fi atrasă în hematii. Din acest motiv hematocritul sîngelui venos este cu aproximativ 3% mai mare decît cel al sîngelui arterial.

iar oxihemoglobina formată devine un acid de 40 ori mai puternic decît hemoglobina redusă și, deci, va fi în măsură să fixeze ionii de K^+ sub formă de oxihemoglobinat de potasiu. Ionii electronegativi de clor vor părăsi deci eritrocitul și ajunși în plasmă vor ataca bicarbonații, combinîndu-se cu sodiul. Ionul bicarbonat eliberat pătrunde în eritrocite și împreună cu H^+, rezultați din disociația oxihemoglobinei, formează acidul carbonic, care va fi supus acțiunii anhidrazei carbonice. La o presiune parțială a CO_2 mai scăzută, așa cum există la nivelul alveolelor, reacția va duce la eliberare de H_2O și CO_2 care difuzează apoi în aerul alveolar (5, 6, 7).

Rolul rinichilor

Mecanismele arătate mai sus sînt în măsură să transforme H^+ din acidul carbonic în H_2O și să îndepărteze CO_2 pe cale respiratorie. Ele nu sînt însă în măsură să îndepărteze din organism ionii de hidrogen, proveniți din acizii nevolatili, cum sînt acidul lactic,

rezultat din efortul muscular, acidul sulfuric rezultat din catabolizazarea proteinelor alimentare, sau acidul fosforic, rezultat din degradarea fosfolipidelor. Principala cale de eliminare a H^+ proveniţi din aceste surse o constituie rinichii. De notat că eliminările urinare de H^+ încetează atunci cînd pH-ul urinii ajunge la o valoare limită de 4,5. Din acest motiv, alături de procesul de eliminare pe cale urinară a H^+, rinichii sînt prevăzuţi cu mecanisme de tamponare a acidităţii urinii.

Mecanismele prin care rinichiul intervine în reglarea echilibrului acido-bazic sînt prezentate schematic în fig. 7—3.

Acizii nevolatili tamponaţi cu cationi (mai ales ca săruri de sodiu) sînt în primul rînd îndepărtaţi din plasmă prin filtrare glomerulară. Evident, la nivelul glomerulului se vor filtra şi toţi electroliţii şi toate sistemele tampon micromoleculare, inclusiv bicarbonaţii. Tubii renali posedă însă mecanisme prin care cationii şi ionul bicarbonat sînt reabsorbiţi din ultrafiltrat, fiind schimbaţi cu H^+, care se secretă în lumenul tubular.

Un prim mecanism este reprezentat de *secreţia de H^+ la nivelul tubului proximal,* procesul fiind dependent de activitatea anhidrazei carbonice. Sub acţiunea acestei enzime din CO_2 şi H_2O se formează acid carbonic, care apoi discociază în H^+ şi ioni de bicarbonat. Hidrogen ionii sînt secretaţi în lumenul tubular, iar ionul bicarbonat, împreună cu cationul Na^+ resorbit din ultrafiltratul glomerular, trec în lichidul interstiţial şi apoi în sînge. Trebuie arătat aici că pătrunderea Na^+ în celulele tubulare contravine legii generale a „pompei de sodiu" care se opune penetraţiei acestui cation în celule. Se pare deci că pompa de $Na^+—K^+$ nu acţionează la nivelul porţiunii din membrana celulelor tubulare care mărgineşte lumenul tubular. Se găseşte însă, la acest nivel, anhidraza carbonică, care poate acţiona astfel şi asupra acidului carbonic din lumenul tubular, transformîndu-l în H_2O şi CO_2; CO_2 rezultat poate difuza înapoi în celulele tubulare fiind reutilizat în sistemul de secreţie a H^+ (vezi fig. 7—3). Prin procesele arătate se produce o recuperare importantă a bicarbonaţilor filtraţi la nivel glomerular. De notat că H^+ secretaţi sînt în mare măsură transformaţi în H_2O, astfel încît pH-ul urinii nu suferă modificări importante la nivelul tubilor proximali.

La nivelul tubilor distali, după ce toţi bicarbonaţii au fost reabsorbiţi, secreţia ionilor de hidrogen se efectuează pe seama *sistemului tampon de fosfaţi*. Hidrogen ionii, secretaţi în lumenul tubular, reacţionează cu fosfatul bibazic (Na_2HPO_4), formînd fosfat monobazic (NaH_2PO_4). Cationul Na^+ eliberat difuzează în celulele tubulare şi apoi este trecut în lichidul interstiţial şi, în cele din urmă, în sînge. Prin procesul arătat mai sus urina cîştigă H^+, iar pH-ul urinar scade. Evident H^+ secretaţi în urină se pot combina şi cu alţi anioni fil-

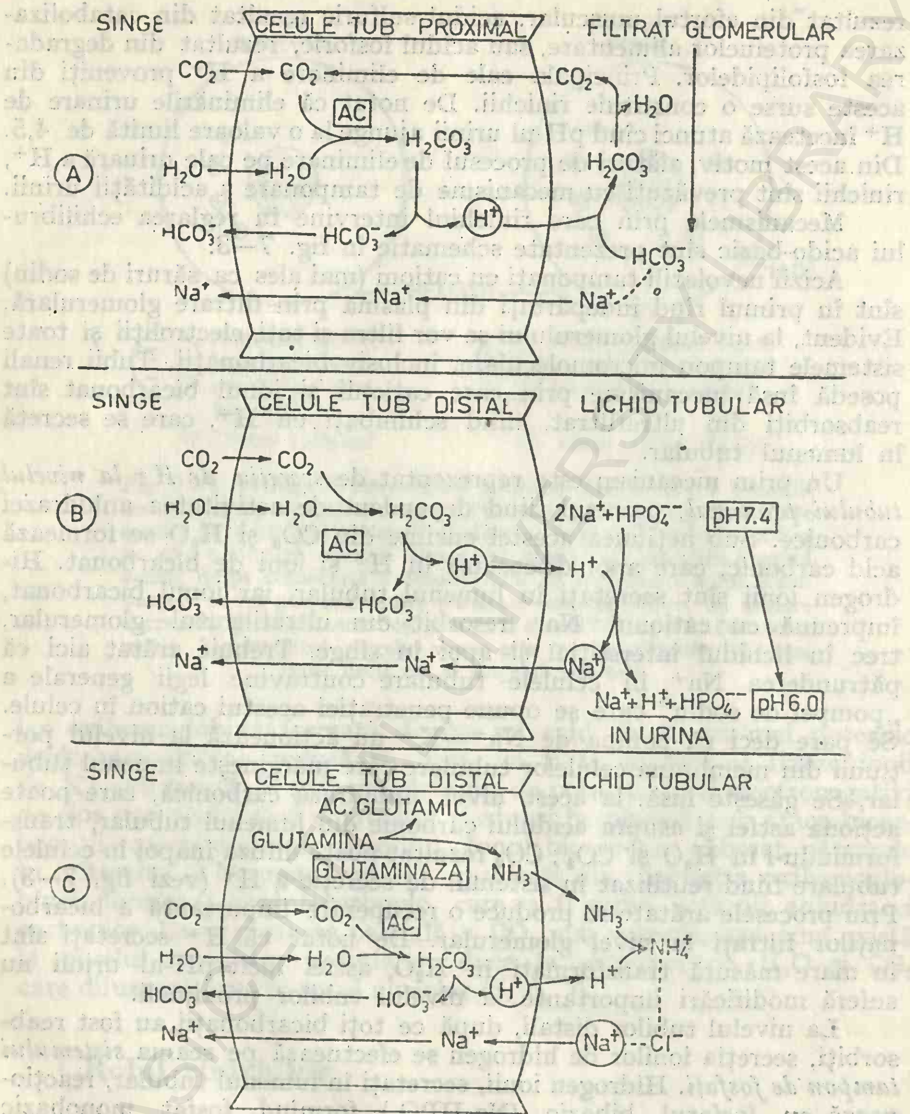


Fig. 7—3. Rolul rinichiului în reglarea echilibrului acido-bazic.
A. Secreția de H+ în tubul proximal. De notat că bicarbonații filtrați la nivel glomerular nu se reabsorb ca atare.
B. Secreția de H+ în tubul distal. Intervenția sistemului tampon de fosfați.
C. Producerea de amoniac în tubul distal. AC = anhidrază carbonică.

traţi la nivel glomerular (3, 4, 11). De notat că reabsorbţia ionilor de Na^+ este cuplată cu eliminarea de H^+ sau de K^+, existînd astfel o competiţie între excreţia tubulară de H^+ şi cea de K^+. Se pare că procesul de reabsorbţie a Na^+ este determinat de viteza de reîmprospătare (turnover) a ATP-ului din celulele tubulare, respectiv de viteza de sinteză şi de scindare a acestui compus macroergic. Se ştie astăzi că scindarea ATP-ului din rinichi se efectuează sub acţiunea unei enzime aşa-zisa *$Na^+ + K^+$ATP-ază* a cărei sinteză este stimulată (indusă) de aldosteron (8 bis).

Producţia de amoniac la nivelul tubilor distali constituie un al treilea mecanism de eliminare a H^+ şi de conservare a cationilor. Amoniacul rezultă din procesul de deamidare a acizilor aminaţi cu funcţii amidice. Deamidarea glutaminei sub acţiunea glutaminazei, ducînd la formarea de acid glutamic şi amoniac, reprezintă principalul mecanism biochimic al amoniogenezei la nivelul tubilor renali. Dezaminarea acidului glutamic şi a altor acizi aminaţi constituie o altă sursă de amoniac. Amoniacul (NH_3) fiind liposolubil traversează cu uşurinţă membranele lipoproteice ale celulelor, difuzînd în lumenul tubular. Aci NH_3 reacţionează cu H^+ şi formează ioni de amoniu (NH_4^+). Spre deosebire de amoniac, ionii de amoniu sînt relativ insolubili în lipide şi rămîn în fluidul tubular, unde se echilibrează cu anioni, ca de exemplu Cl^-. În acest fel, secreţia de amoniac permite reabsorbţia unor noi cantităţi de ioni de sodiu, aşa cum reiese din fig. 7—3. Cantitatea de ioni de amoniu (NH_4) formată în urină depinde de intensitatea secreţiei de H^+. În condiţii normale, un adult secretă 0,6—0,8 g amoniu/24 ore. Într-o urină alcalină, cantitatea de amoniu tinde spre zero, iar în caz de acidoză cronică (de exemplu în acidoza diabetică) se pot elimina zilnic peste 10 g. S-a sugerat că acidoza ar stimula activitatea glutaminazei în celulele renale (7, 9).

Excreţia de bicarbonaţi. Aşa cum reiese din fig. 7—3, ionul bicarbonat nu este reabsorbit printr-un proces activ de transport. Dată fiind însă transformarea bicarbonaţilor în acid carbonic la nivelul lumenului tubular şi apoi scindarea acidului carbonic în H_2O şi CO_2, care difuzează în celulele tubulare, bicarbonaţii eliminaţi la nivelul glomerular nu ajung să se elimine prin urină. Dacă concentraţia plasmatică depăşeşte însă 28 mEq/l, ionul bicarbonat apare în urină, care devine alcalină (4, 5, 11).

Alte mecanisme de reglare a echilibrului acido-bazic

Ficatul intervine în reglarea echilibrului acido-bazic prin transformarea acidului lactic în glicogen, precum şi prin procesele de sulfo- şi glicuronoconjugare. Se ştie că în insuficienţa hepatică se poate ajunge la o acumulare de acizi nevolatili. *Pielea*, prin glandele sudorale, contribuie într-o mică măsură la înlăturarea excesului de acizi, reacţia secreţiei sudorale fiind dependentă de pH-ul sîngelui. *Glandele digestive* intervin şi ele în echilibrul acido-bazic, sucul gastric fiind mai acid în stări de acidoză. Deşi în condiţii fiziologice aceste mecanisme joacă un rol minor, pierderile de sucuri digestive în stări patologice se repercută asupra echilibrului acido-bazic. În fig. 7—4, reprezentăm schematic principalele mecanisme ale reglării echilibrului acido-bazic. De notat că eliminările pulmonare de CO_2 sînt mai accentuate în caz de polipnee, iar *centrul respirator* din sistemul nervos central este stimulat de creşterea concentraţiei de CO_2 în sînge şi de o scădere a pH-ului sanguin (2, 4, 5, 6, 7).

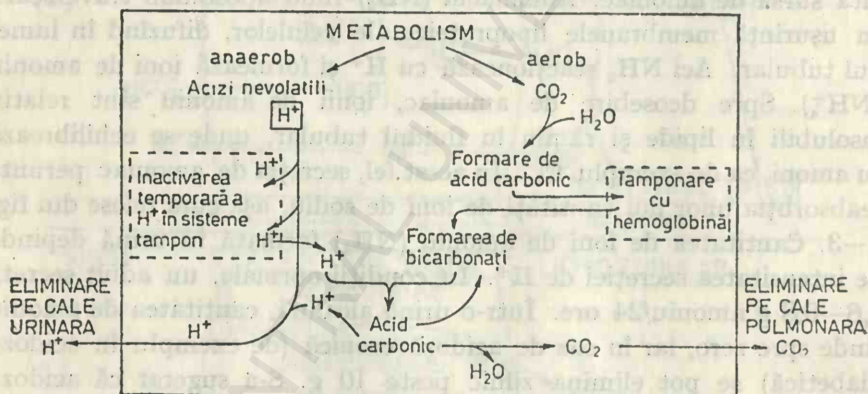


Fig. 7—4. Reprezentare schematică simplificată a mecanismelor biochimice de reglare a echilibrului acido-bazic.

Relaţia dintre metabolismul potasiului şi echilibrul acidobazic

Excreţia de potasiu se efectuează prin mecanisme similare cu cea de H^+. De aceea potasiul poate intra în competiţie cu H^+, în ceea ce priveşte schimbul cu ioni de sodiu la nivelul tubilor renali.

Din acest motiv, metabolismul potasiului este în conexiune strînsă şi reciprocă cu echilibrul acido-bazic (8, 11).

Efectele hipo- şi hiperpotasemiilor asupra echilibrului acido-bazic. În caz de *depleţiţie severă de potasiu,* scăderea acestui cation se va repercuta şi asupra conţinutului în K^+ a celulelor tubilor renali. Scăderea K^+ în aceste celule va avea drept urmare o excreţie crescută de H^+, deoarece ionul K^+ nu mai intră în competiţie cu eliminările de H^+. În depletiţia de potasiu, ca de exemplu după un exces îndelungat de corticoizi, se va excreta o urină intens acidă. Întrucît, secreţia crescută de H^+ se asociază cu o reabsorbţie crescută de bicarbonaţi (vezi fig. 7—3), ionul bicarbonat va creşte în plasmă. Pe de altă parte, depletiţia celulară de potasiu creează un deficit de cationi la nivel celular. Din cauza acţiunii „pompei de sodiu" care se opune pătrunderii acestui cation în celule, sodiul nu poate înlocui decît în mică măsură potasiul intracelular pierdut. Deficitul intracelular de cationi este însă oarecum echilibrat electrostatic prin pătrunderea de H^+ din lichidul extracelular în celule. De notat că membranele celulare sînt permeabile pentru H^+. Se ajunge astfel la o acidoză celulară. În schimb, în lichidul extracelular, şi deci în plasmă, se produce o alcaloză, datorită eliminării crescute de H^+ în urină, difuzării de H^+ din plasmă în celule şi reabsorbţiei crescute de bicarbonaţi din filtratul glomerular. Aşa cum reiese din fig. 7—5 în astfel de cazuri se ajunge la o acidoză celulară, o alcaloză plasmatică şi o urină foarte acidă (acidurie paradoxală). Anomaliile descrise mai sus se amendează după corectarea depletiţiei în potasiu. Dacă depletiţia de potasiu nu este corectată se poate ajunge, după un interval mai îndelungat, la leziuni ale celulelor tubulare. În această etapă, reabsorbţia tubulară de bicarbonaţi şi de sodiu scade iar alcaloza extracelulară va diminua pe măsură ce funcţia renală se alterează.

Teoretic ar trebui ca *excesul de potasiu* să ducă la efectul invers, adică la acidoză extracelulară, alcaloză intracelulară şi eliminarea unei urini alcaline. Astfel de situaţii se întîlnesc însă rar în practică. Asocierea unei acidoze cu o hiperpotasemie se datoreşte mai des unei insuficienţe renale care perturbă atît eliminarea potasiului cît şi a H^+. Evident, că în astfel de cazuri, acidoza nu este o consecinţă a hiperpotasemiei (3, 4, 8).

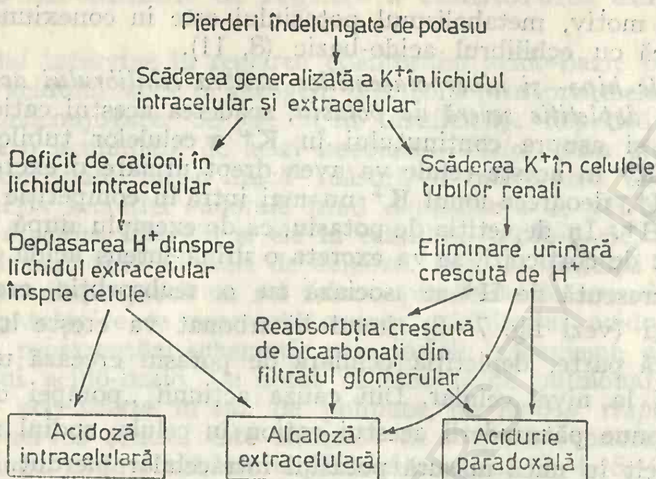


Fig. 7–5. Reprezentare schematică a mecanismelor care determină perturbarea echilibrului acido-bazic, în deficitul de potasiu. Se vorbește de o acidurie paradoxală deoarece coexistă cu un nivel crescut al bicarbonaților plasmatici.

Efectul acidozei și alcalozei asupra metabolismului potasiului

Creșterile potasiului seric în cursul acidozelor sînt frecvente și se explică prin dislocarea K^+ din celule de către H^+.

Pe de altă parte, excesul de H^+, caracteristic acidozei, va exercita o inhibiție competitivă asupra eliminărilor de potasiu ducînd și prin acest mecanism la creșterea potasemiei. În astfel de cazuri, hiperpotasemia apare ca o consecință directă a acidozei.

În condițiile unei alcaloze, de exemplu după administrarea de bicarbonat la un subiect normal, scăderea H^+ în sînge și la nivelul celulelor tubulare renale, va avea drept consecință o eliminare crescută de K^+ prin lipsa competiției exercitate de H^+. În astfel de situații, pierderile de potasiu și hipopotasemia vor fi secundare alcalozei, iar urina va fi bineînțeles alcalină.

În urma administrărilor de diuretice de tipul *acetazolamidei* se ajunge la o situație mai particulară. Preparatul fiind un inhibitor al anhidrazei carbonice, diminuă concentrația de H^+ în celulele tubilor renali. În consecință, eliminările urinare de potasiu vor fi crescute prin lipsa competiției exercitate în condiții normale de către H^+.

Pe de altă parte, datorită perturbărilor produse în eliminarea H^+ şi prin pierderile urinare de bicarbonaţi, se ajunge la o acidoză. Asocierea acidozei cu hipopotasemia se întîlneşte doar în cursul acestei terapii şi în condiţiile unei aşa-zise *„acidoze renale tubulare”*, cînd există un deficit congenital sau cîştigat în procesul de eliminare tubulară a H^+ (3, 4, 7, 8, 11).

PERTURBAREA ECHILIBRULUI ACIDO-BAZIC

Creşterea în organism a concentraţiei ionilor de hidrogen, respectiv tendinţa la scădere a pH realizează acidoza, iar scăderea concentraţiei ionilor de hidrogen, respectiv creşterea pH-ului, duce la apariţia alcalozei. Întrucît în cursul proceselor metabolice se produc ioni de hidrogen (H^+) şi nu ioni de hidroxil (OH^-), tendinţa la acidoză se va întîlni mai frecvent decît tendinţa la alcaloză. Dealtfel, aşa cum s-a arătat mai sus, mecanismele homeostatice sînt adaptate în special pentru combaterea unui exces de H^+. În principiu atît acidoza cît şi alcaloza pot fi produse: 1) din cauza unui exces de H^+ sau de OH^-, mecanismele homeostatice comportîndu-se adecvat, dar fiind depăşite, şi 2) din cauza unei insuficienţe primordiale a mecanismelor homeostatice (4, 5, 13). Redăm mai jos, în mod rezumativ, cauzele care pot duce la acidoză sau la alcaloză.

Cauzele acidozei

Deplasarea echilibrului acido-bazic spre latura acidă poate apare în următoarele condiţii:

1) *Exces de H^+ în prezenţa unor mecanisme homeostatice normale*

a) *Acidocetoză,* putînd surveni în cursul diabetului zaharat sau în cursul inaniţiei, cînd se produc în organism mari cantităţi de corpi cetonici care se comportă ca nişte acizi.

b) *Anoxie sau hipoxie,* care pot surveni, de exemplu în cursul unui efort muscular intens, mai ales dacă se efectuează într-o atmosferă cu deficit de O_2. În astfel de situaţii, H^+ produşi nu pot fi oxidaţi spre H_2O la nivel celular.

c) *Ingestia de acizi.* O astfel de situaţie se întîlneşte rareori în practică. Ea poate surveni după ingestia de clorură de amoniu.

În condiţiile arătate mai sus, eliminarea de H^+ şi reabsorbţia şi regenerarea de HCO_3^- nu pot ţine pasul cu producţia crescută de H^+. Bicarbonaţii vor scădea în plasmă, iar urina va fi acidă.

Stimularea centrului respirator duce la o eliminare crescută de CO_2, iar PCO_2 şi acidul carbonic vor scădea, ca un mecanism compensator faţă de scăderea bicarbonaţilor.

2) *Insuficienţa mecanismelor homeostatice*

a) *Insuficienta eliminare de H^+ la nivelul rinichiului* poate fi întîlnită în: insuficienţa renală generalizată, care afectează atît glomerulii cît şi tubii renali; insuficienţă a tubilor renali, cînd este afectată secreţia de H^+ şi reabsorbţia de Na^+, producerea de amoniac, cît şi procesele de reabsorbţie şi regenerare a bicarbonaţilor (vezi fig. 7—3); acidoza tubulară renală poate surveni ca o eroare înnăscută de metabolism sau poate fi dobîndită în cursul unei pielonefrite. În astfel de situaţii, rinichiul este incapabil să elimine o urină acidă, chiar atunci cînd se produce o încărcare acidă cu clorură de amoniu. Producerea de amoniac este adeseori păstrată, în această situaţie deficitul fiind la nivelul mecanismelor de secreţie a H^+. O situaţie similară se întîlneşte în cursul terapiei cu diuretice de tipul acetazolamidei, care inhibă anhidraza carbonică, ducînd la deprimarea secreţiei de H^+ şi la reducerea procesului de regenerare a bicarbonaţilor.

Insuficienţa glomerulară poate duce şi ea la acidoză, întrucît eliminarea de H^+, care se efectuează în cadrul unui schimb cu ionul de Na^+, este stînjenită în condiţiile unui filtrat glomerular diminuat şi deci a unei cantităţi reduse de Na^+ în lichidul tubular. O astfel de situaţie poate surveni atît în afecţiuni glomerulare (nefrite) cît şi în perturbări ale irigaţiei renale (de exemplu scăderea volumului lichidului extracelular).

b) *Retenţia de CO_2 în afecţiuni pulmonare.* S-a arătat mai sus că anoxia poate fi o cauză de acidoză. Totuşi acidoza cauzată de anoxia pură şi consecutivă unei acumulări de acizi nevolatili (acid lactic) evoluează cu toate caracteristicile unei acidoze metabolice, nivelul bicarbonaţilor fiind scăzut. În cazul afecţiunilor pulmonare care duc la retenţia de CO_2, mecanismul prin care se ajunge la acidoză este diferit şi evoluează cu o creştere a bicarbonaţilor. Asupra acestui tip de acidoză respiratorie vom reveni.

3) *Exces relativ de H^+ în pierderile de bicarbonaţi.* Pierderea bicarbonaţilor va duce la diminuarea capacităţii de tamponare a sîngelui. Astfel de pierderi pot surveni în cazul unei diarei severe sau în fistule intestinale sau pancreatice. Avîndu-se în vedere că în comparaţie cu plasma, concentraţia bicarbonaţilor este aproape dublă în astfel de secreţii digestive (vezi vol. I, p. 275), se va ajunge destul de rapid la o depletiţie în bicarbonaţi. Tulburările echilibrului acido-bazic vor însoţi, în astfel de cazuri, tulburările hidroelectrolitice descrise în capitolul 5.

Cauzele alcalozei

Se cunosc următoarele cauze ale alcalozei:

1) *Alcaloză în prezența unor mecanisme homeostatice normale.*

a) *Ingestia de alcaline* (de exemplu, consum excesiv de bicarbonat de sodiu pentru tratamentul unor afecțiuni gastrice).

b) *Pierderile de H^+* survin mai ales în stenoza pilorică. În această situație, H^+ sînt pierduți, sub formă de acid clorhidric, în cursul vărsăturilor. Stenoza pilorică face ca în cursul vărsăturilor să nu se producă o refluare de suc duodenal alcalin în stomac, care ar fi compensat pierderile de H^+. Tulburările care apar drept urmare a vărsăturilor nu sînt doar o consecință a alcalozei, dar și a tulburărilor hidroelectrolitice și a hipopotasemiei. Hipopotasemia nu este doar o consecință directă a pierderilor de K^+ prin vărsături. Mecanismul principal este reprezentat de pierderile urinare de K^+, consecutive alcalozei, respectiv a scăderii H^+ în celulele tubilor renali (vezi pag. 58). Caracteristică pentru acest tip de alcaloză este creșterea bicarbonaților și hipocloremia. Scăderea volumului lichidului extracelular reduce irigația rinichiului și deci scade filtratul glomerular, ceea ce stînjenește eliminarea pe cale urinară a bicarbonaților. De notat că o reducere a irigației renale și o scădere a filtratului glomerular poate agrava atît o acidoză cît și o alcaloză. Totodată reducerea volumului lichidului extracelular și a irigației renale poate determina o secreție crescută de aldosteron care, favorizînd reabsorbția de Na^+ și eliminările de K^+, agravează atît alcaloza cît și hipopotasemia.

c) *Alcaloza extracelulară din depletiția de potasiu* a fost descrisă anterior (vezi pag. 57). Reamintim doar că această alcaloză extracelulară evoluează cu o acidoză celulară și că urina eliminată este foarte acidă (acidurie paradoxală).

2) *Alcaloza produsă prin perturbarea mecanismelor homeostatice.* O astfel de alcaloză este produsă în caz de hiperventilație și eliminarea în exces a acidului carbonic. Ea se poate întîlni în caz de leziuni ale trunchiului cerebral, cu excitarea centrului respirator, sau în caz de histerie. În intoxicația cu salicilați se poate ajunge, de asemenea, la o stimulare patologică a centrului respirator și la alcaloză prin hiperventilație. Hiperventilația și alcaloza consecutivă se întîlnește și la subiecții supuși la o atmosferă rarefiată (la mari altitudini) sau în caz de utilizare nejudicioasă a unui plămîn artificial.

Clasificarea acidozelor și alcalozelor în funcție de raportul dintre HCO_3^- și H_2CO_3

Așa cum a reieșit din cele expuse anterior, tamponul bicarbonat/acid carbonic are o serie de particularități care-i conferă un rol deosebit. În primul rînd, formarea de acid carbonic (H_2CO_3) depinde de presiunea parțială a CO_2 (PCO_2), iar CO_2 este un produs de metabolism care se poate combina cu apa spre a forma acid carbonic. Acidul carbonic disociază apoi în H^+ și HCO_3^-. În acest fel, materialul pentru formarea componentelor tamponului este furnizat, la nevoie, în cantități abundente. În al doilea rînd, unul din componentele tamponului, și anume acidul carbonic, poate fi desfăcut în H_2O și CO_2, iar eliminarea prin plămîni a CO_2 menține valori scăzute ale concentrației de H_2CO_3 în sînge. În plus, această eliminare de CO_2 este controlată atît de PCO_2 din sînge cît și de pH-ul sîngelui, care irigă centrul respirator din formația reticulată a trunchiului cerebral. În acest fel, eliminarea de CO_2 și deci îndepărtarea unuia din componenții sistemului tampon poate fi crescută după necesități, aflîndu-se sub controlul mecanismelor superioare de reglare a homeostaziei. Din acest motiv a devenit tot mai răspîndită tendința de a clasifica tulburările echilibrului acido-bazic în funcție de starea sistemului tampon bicarbonat/acid carbonic (4, 5, 10, 12, 13).

Conform formulei lui Henderson și Hasselbach:

$$pH = pK + \log \frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$$

la pH-ul normal de 7,40 al sîngelui, raportul bicarbonat/acid carbonic este în jur de 20 : 1. Orice creștere a numitorului sau scădere a numărătorului va duce la o scădere a raportului, deplasînd pH-ul spre latura acidă, pe cînd creșterea numărătorului sau scăderea numitorului vor duce la o deplasare a pH-ului spre latura alcalină. Întrucît conținutul de acid carbonic al sîngelui este în funcție de PCO_2 în sînge care, la rîndul său, depinde de starea funcției respiratorii, se consideră că perturbările echilibrului acido-bazic, cauzate de o modificare a conținutului de acid carbonic al sîngelui, sînt de origine respiratorie. Astfel, *acidoza respiratorie* va surveni atunci cînd se produce o acumulare a H_2CO_3 în sînge, ca urmare a perturbării eliminărilor de CO_2 la nivelul alveolelor pulmonare; *alcaloza respiratorie* va fi întîlnită atunci cînd viteza de eliminare a CO_2 este excesivă, iar raportul bicarbonați/acid carbonic crește. Dacă creșterea acidului carbonic din acidoza respiratorie se

însoţeşte de o creştere similară a bicarbonaţilor, pH-ul nu scade. Se vorbeşte într-o astfel de situaţie de *acidoză respiratorie compensată*. De asemenea, în condiţiile unei alcaloze respiratorii poate surveni o scădere echivalentă a bicarbonaţilor, ceea ce duce la o restabilire a raportului bicarbonaţi/acid carbonic, iar pH-ul este în limite normale. Se vorbeşte în acest caz de o *alcaloză respiratorie compensată*. Cu alte cuvinte în cazul compensării, pH-ul este normal, fiindcă raportul între H_2CO_3 şi HCO_3 rămîne de 20 : 1, deşi concentraţiile celor doi componenţi ai tamponului pot fi anormale. Astfel, conţinutul în CO_2 total al plasmei, şi care reprezintă o sumă a acidului carbonic şi a bicarbonaţilor, va fi crescut peste valorile normale în acidoza respiratorie compensată şi va fi sub valorile normale în alcaloza respiratorie compensată.

Cînd perturbările echilibrului acido-bazic sînt cauzate de o modificare iniţială a bicarbonaţilor se vorbeşte de acidoză sau alcaloză metabolică. *Acidoza metabolică* apare în caz de scăderi a bicarbonaţilor. Punerea în joc a mecanismelor homeostatice şi eliminarea în exces a acidului carbonic pe cale respiratorie fac ca pH-ul să revină la valori normale, iar acidoza metabolică să devină compensată. Un exces de bicarbonaţi va duce la o *alcaloză metabolică*, care poate fi compensată de o creştere a acidului carbonic în urma unei deprimări compensatorii a respiraţiei. Dacă mecanismele de compensare sînt insuficiente sau sînt depăşite, pH-ul se modifică ajungîndu-se la acidoze sau alcaloze decompensate. Se pot descrie deci următoarele stări patologice caracteristici: 1) acidoza respiratorie compensată; 2) acidoza respiratorie decompensată; 3) alcaloza respiratorie compensată; 4) alcaloză respiratorie decompensată; 5) acidoza metabolică compensată; 6) acidoză metabolică decompensată; 7) alcaloză metabolică compensată; 8) alcaloză metabolică decompensată.

Mecanismele patogenetice care intervin în diversele tipuri de acidoze sau alcaloze sînt reprezentate schematic în fig.7—6, iar condiţiile patologice care duc la aceste perturbări, precum şi principalele constatări de laborator sînt trecute în tabelul 7—2.

EXPLORAREA ECHILIBRULUI ACIDO-BAZIC ÎN CLINICĂ

Avîndu-se în vedere datele de fiziopatologie expuse mai sus apare firesc ca dereglările majore ale echilibrului acido-bazic să se însoţească de *manifestări clinice* importante. Aşa de exemplu, acidoza metabolică determină o activare a centrului respirator, care se

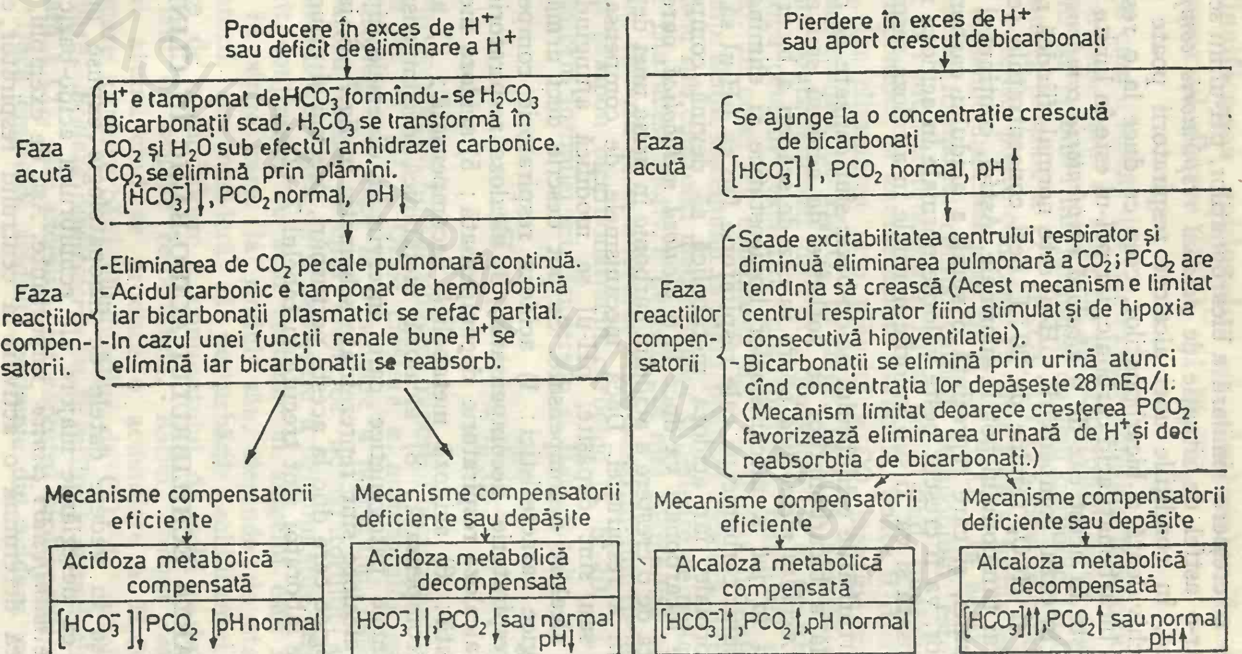


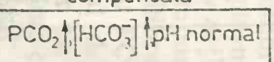
Fig. 7–6.A Reprezentare schematică a mecanismelor prin care se ajunge la modificările umorale în *acidozele și respectiv alcalozele metabolice.*

Deficit în eliminarea pulmonară a CO_2

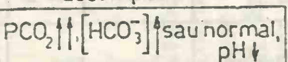
Faza acută
- Creşte presiunea parţială a CO_2 în alveole şi în sîngele arterial ($PCO_2\uparrow$)
- CO_2 se combină cu apa sub efectul anhidrazei carbonice din eritrocite şi tubii renali formînd acid carbonic
- $PCO_2\uparrow$, $[H_2CO_3]\uparrow$, $[HCO_3^-]$ normal, pH $\downarrow$

Faza reacţiilor compensatorii
- H^+ tamponaţi de hemoglobină – eliberare de bicarbonaţi care difuzează în plasmă
- H^+ eliminaţi prin urină iar bicarbonaţii reabsorbiţi la nivel tubular

Mecanisme compensatorii eficiente → Acidoza respiratorie compensată



Mecanisme compensatorii deficiente sau depăşite → Acidoza respiratorie decompensată

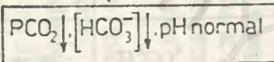


Eliminare excesivă a CO_2 (Hiperventilaţie)

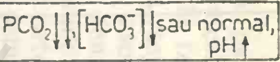
Faza acută
- Scade presiunea parţială a CO_2 în alveole şi în sîngele arterial ($PCO_2\downarrow$)
- Din cauza scăderii PCO_2, H_2CO_3 se desface în CO_2 şi H_2O sub acţiunea anhidrazei carbonice
- $PCO_2\downarrow$, $[H_2CO_3]\downarrow$, $[HCO_3^-]$ normal, pH $\uparrow$

Faza reacţiilor compensatorii
- Se reduce eliminarea urinară a H^+
- Scade formarea de bicarbonaţi
- Scade reabsorbţia de bicarbonaţi

Mecanisme compensatorii eficiente → Alcaloza respiratorie compensată



Mecanisme compensatorii deficiente sau depăşite → Alcaloza respiratorie decompensată



B. Reprezentare schematică a mecanismelor de producere a modificărilor umorale în acidozele şi respectiv alcalozele respiratorii.

Tabel 7—2

Comportarea unor date de laborator (exemple ilustrative) în cîteva dereglări caracteristice ale echilibrului acido-bazic și diferitele cauze care pot provoca aceste dereglări. Valori de pH între 7,35 și 7,45 sînt considerate ca fiind în limitele fiziologice de oscilație

Starea echilibrului acido-bazic		pH	HCO_3^- (mEq/l)	PCO_2 (mm Hg)	$H_2CO_3^*$ mEq/l	$\frac{HCO_3^-}{H_2CO_3}$	K^+ mEq/l	Cauze
Normală		7,40	24,10	40	1,20	20,00	4,5	
Acidoză metabolică	compensată	7,39	15,20	26	0,70	19,50	5,6**	Acido-cetoză diabetică; inaniție, ingestie de NH_4Cl, insuficiență renală, diarei, fistule intestinale
	decompensată	7,17	11,20	32	0,96	11,66	5,9	
Acidoză respiratorie	compensată	7,36	27,60	50	1,50	18,40	5,4	Pneumonie, emfizem, insuficiență cardiacă, astm, deprimarea centrului respirator (intoxicație cu morfină), paralizia mușchilor respiratori
	decompensată	7,29	30,00	64	1,92	15,60	5,8	
Alcaloză metabolică	compensată	7,40	30,00	50	1,50	20,00	4,0	Stenoză pilorică, ingestie de alcaline
	decompensată	7,55	49,80	58	1,74	28,62	3,4	
Alcaloză respiratorie	compensată	7,42	18,90	30	0,90	21,00	4,2	Ridicări la altitudine, hiperventilație în caz de hiperexcitabilitate a centrului respirator (leziuni nervoase, isterie, intoxicație cu salicilați)
	decompensată	7,51	18,50	25	0,75	26,00	3,8	

* Valorile H_2CO_3(mEq/l) se obțin înmulțind PCO_2 cu 0,03; cunoscîndu-se doi din cei trei parametrii principali ai echilibrului acido-bazic (PCO_2, HCO_3^-, pH), se poate calcula pe cel de al treilea, conform formulei lui Henderson și Hasselbach (vezi pag. 68).

** Potasiul seric este scăzut în acidoza produsă de tratamentul cu diuretice de tipul acetozolamidei sau în acidoza tubulară renală. De asemenea potasiul poate scădea în cursul terapiei unei acidoze diabetice.

traduce printr-o respirație amplă, profundă, cu pauze mari între inspirație și expirație (respirație tip Kussmaul), iar alcalozele evoluează cu parestezii periferice și peribucale și tendință la tetanie. Manifestări clinice cu caracter particular survin în acidoza respiratorie. Într-o astfel de situație, retenția de CO_2 (hipercapnie), asociată de regulă cu hipoxia, determină în esență trei categorii de fenomene: a) creșterea secrețiilor acide (hipersecreție gastrică și sudorală); b) semne cardiovasculare (tahicardie, variații ale tensiunii arteriale, vasodilatație periferică și creșterea presiunii venoase); c) semne neuropsihice ca obnubilare, tulburări de somn, tremurături și modificări oftalmologice. Aceste manifestări cerebrale din bronhopneumopatia obstructivă, la a căror descriere a contribuit în mare măsură Iuliu Hațieganu încă din 1930, sînt cunoscute astăzi sub diverse denumiri ca encefalopatia respiratorie, narcoza carbonică sau sindrom al hiposistoliei cerebrale.

De notat însă că manifestările clinice descrise mai sus apar doar în acidozele sau alcalozele severe. Pe de altă parte, aceste manifestări se intrică cu simptomele bolii care a cauzat dereglarea echilibrului acido-bazic. Reamintim și faptul că acidozele se însoțesc adeseori de hiperpotasemie, iar alcalozele de hipopotasemie (vezi pag. 58), iar variațiile patologice ale potasiului pot cauza manifestări clinice și electrocardiografice particulare (vezi vol. I pag. 290). Din aceste motive, în toate stările patologice care pot cauza dereglări ale echilibrului acido-bazic (vezi pag. 59) se recomandă o explorare precoce și cît mai completă a acestui echilibru și a metabolismului hidroelectrolitic.

Capacitatea de combinare cu CO_2 a plasmei și determinările de pH

Cea mai răspîndită metodă de explorare a echilibrului acido-bazic este determinarea *rezervei alcaline* (bicarbonații plasmatici) măsurîndu-se cantitatea de CO_2 eliberată din plasmă sub acțiunea unui acid puternic (de exemplu, acid sulfuric), care descompune bicarbonatul de sodiu. De regulă plasma a fost în prealabil echilibrată la o presiune parțială a CO_2 de 40 mmHg, și care corespunde cu PCO_2 din alveolele unui subiect normal. Se obține astfel conținutul de CO_2 total din plasmă în condiții standard. Această valoare este de 55—63 volume la 100 ml plasmă, iar prin împărțirea acestor valori cu 2,24 se obțin valorile în mEq/l și care, în condiții normale, sînt de aproximativ 25—27 mEq/l. Reamintim că această valoare reprezintă atît acidul carbonic cît și CO_2 liber și bicarbonații. Considerîndu-se că bicarbona-

ţii sînt de cca 20 de ori mai concentraţi decît acidul carbonic, concentraţia în bicarbonaţi se poate afla împărţindu-se volumele (ml) de CO_2 plasmatic total la 2,3. Bicarbonaţii mai pot fi calculaţi scăzîndu-se din CO_2 total, exprimat în mEq/1, cifra de 1,2, care reprezintă cantitatea de CO_2 dizolvat la PCO_2 standard de 40 mmHg. Aceste calcule sînt aplicabile doar atunci cînd raportul HCO_3^-/H_2CO_3 este de 20/1. Dacă se cunoaşte PCO_2 actuală în sîngele de analizat, cantitatea de bicarbonaţi în mEq/l poate fi aflată scăzîndu-se din cantitatea totală de CO_2 (mEq/l) cifra obţinută prin înmulţirea PCO_2 cu factorul 0,03. De exemplu, CO_2 total = 60 vol/100 ml (26,8 mEq/l); PCO_2 =50 mmHg. Atunci $[HCO_3^-] = 26,8 - 50 \times 0,03 = 25,3$ mEq/l.

Determinarea rezervei alcaline, respectiv a bicarbonaţilor sau a puterii de combinare cu CO_2 a plasmei, are valoare numai atunci cînd se interpretează în lumina datelor clinice. Aşa cum reiese din tabelul 7—2, o scădere a bicarbonaţilor poate fi o consecinţă a unei acidoze metabolice sau a unei alcaloze respiratorii, iar o creştere a bicarbonaţilor poate fi cauzată de o acidoză respiratorie sau de o alcaloză metabolică. Date fiind însă condiţiile diferite de apariţie a tulburărilor semnalate mai sus, determinarea nivelului bicarbonaţilor poate fi folosită pentru orientare. Aşa de exemplu, scăderea bicarbonaţilor la un diabetic va fi interpretată ca un semn de acidoză metabolică, care poate fi însă compensată sau decompensată.

Pentru aprecierea gradului de compensare este necesară determinarea pH-ului, iar astăzi majoritatea spitalelor posedă pH-metre suficient de precise, bazate pe principii electrometrice. Cunoscîndu-se pH-ul şi bicarbonaţii plasmatici se poate calcula PCO_2, pornindu-se de la formula lui Henderson şi Hasselbach şi ţinîndu-se cont că concentraţia plasmatică de acid carbonic poate fi obţinută prin înmulţirea PCO_2 cu factorul 0,03.

Formula lui Henderson şi Hasselbach devine:

$$pH = 6,1 + \log \frac{[HCO_3^-]}{0,03 \times PCO_2} ; \quad \text{deci: } \log \frac{[HCO_3^-]}{0,03 \times PCO_2} = pH - 6,1 ;$$

$$\text{Delogaritmînd: } PCO_2 = \frac{[HCO_3^-]}{0,03 \times \text{antilog } (pH - 6,1)}$$

De exemplu: pH = 7,40, iar $[HCO_3^-]$ = 20 mEq/l.

$$PCO_2 = \frac{20}{0,03 \times \text{antilog } (7,40 - 6,1)} = \frac{20}{0,03 \times 20} = 33 ;$$

Deci PCO_2 = 33 mmHg

Aflarea PCO_2 are importanță deosebită pentru punerea în evidență a unei componente pulmonare și în special pentru elucidarea unei intricări de factori metabolici și respiratori (de exemplu, o insuficiență renală complicată cu o pneumonie). Conținutul de bicarbonați este similar în plasma arterială sau venoasă, dar diferențele în privința PCO_2 sînt mai accentuate (PCO_2 este mai crescut în sîngele venos, așa cum reiese și din tabelul 7-1). Trebuie arătat că determinările pe pH și bicarbonați, efectuate în plasmă, nu țin cont de sistemul tampon reprezentat de hemoglobină. De aceea, un progres însemnat îl constituie introducerea în laboratorul clinic a microechipamentului Astrup, care permite determinări ale echilibrului acido-bazic în sîngele arterial sau capilar, recoltat în condiții anaerobe (1, 11, 12).

Metoda Astrup de explorare a echilibrului acido-bazic

Metoda Astrup se bazează pe relația invers proporțională care există între presiunea parțială a CO_2(PCO_2) și pH-ul sîngelui. Cu cît PCO_2 este mai mare, cu atît pH-ul va scădea (va devia spre latura acidă). În consecință, din sîngele recoltat se efectuează trei determinări de pH și anume:

1. O determinare de pH din sîngele arterial sau capilar recoltat în condiții anaerobe. Această valoare reprezintă pH-ul actual sau real al sîngelui.

2. O determinare de pH din sîngele care a fost în prealabil echilibrat cu un amestec de oxigen și CO_2, în care valoarea PCO_2 este cunoscută și prezintă valori ridicate (de regulă 60 mmHg).

3. O determinare de pH în sîngele care a fost în prealabil echilibrat cu un amestec de oxigen și CO_2 în care valoarea cunoscută a PCO_2 este joasă (de obicei 30 mmHg).

Valorile obținute se înscriu pe o nomogramă, avînd trecute pe abscisă valorile pH, iar pe ordonată valorile logaritmice ale PCO_2. (Nomograma Siggaard-Andersen). Dreapta care se trasează prin unirea celor două valori obținute prin determinări de pH la PCO_2 cunoscute, indică relația între PCO_2 și pH; valoarea pH-ului actual se interpolează pe această dreaptă, iar *valoarea actuală a* PCO_2, în sîngele de cercetat, se determină ducînd o orizontală din punctul care înscrie pH-ul actual (prima determinare de pH efectuată în sîngele recoltat în condiții anaerobe), pînă pe ordonata pe care sînt înscrise valorile PCO_2. Așa cum s-a mai arătat, valoarea normală a PCO_2 este în jur de 40 mmHg.

Metoda Astrup poate da indicații și asupra altor parametrii cum ar fi: *bicarbonatul standard*, care reprezintă conținutul în bicarbonat al sîngelui cînd acesta este complet saturat cu oxigen și la un PCO_2 standard de 40 mmHg. Cu alte cuvinte bicarbonatul standard indică cît ar fi concentrația de bicarbonat la litru dacă nu ar

exista nici o perturbare a componentei pulmonare de reglare a echilibrului acido-bazic. Valoarea se citeşte pe nomogramă la punctul în care dreapta care uneşte pH-urile găsite, intersectează scala bicarbonaţilor (linia orizontală din dreptul $PCO_2 = 40$ mmHg). Valori normale cca 24 mEq/l.

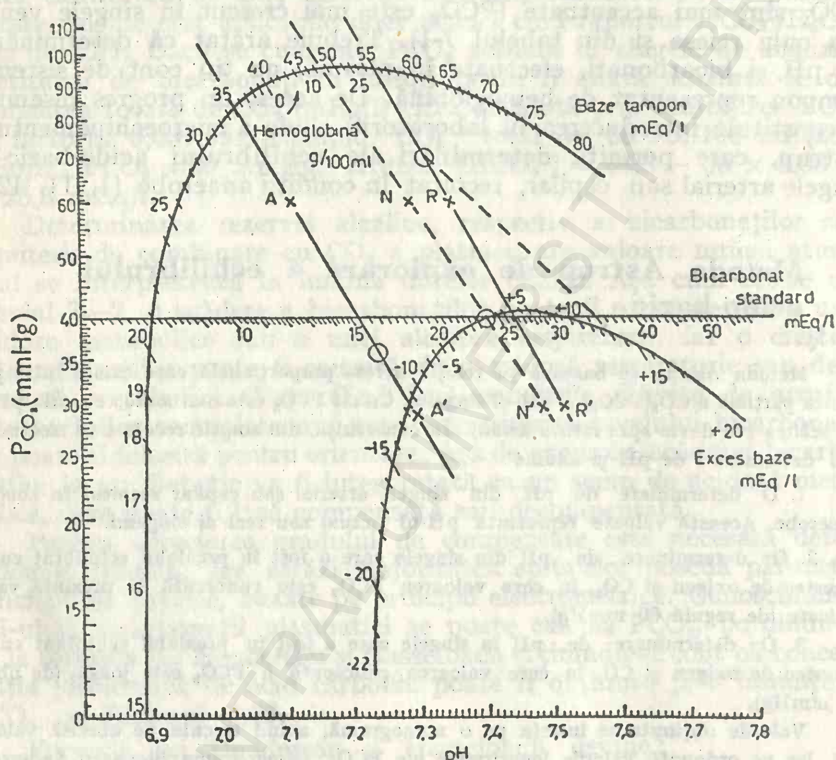


Fig. 7—7. Curba nomogramă Siggaard-Anderson avînd înregistrate cîteva exemple ilustrative de obţinere a datelor privind echilibrul acido-bazic.

Dreapta din mijloc (linia întreruptă) NN' reprezintă normalul; O-reprezintă pH-ul actual, interpolat pe dreapta care uneşte cele două puncte (x) ale pH-urilor obţinute la un pCO_2 de 60 mmHg, respectiv 30 mmHg.

Dreapta din stînga figurii (AA') reprezintă o acidoză metabolică decompensată: pH actual = 7,23; PCO_2 = 35 mmHg; exces baze = −12 mEq/l; baze tampon 35 mEq/l; bicarbonat standard = 15 mEq/l; bicarbonat actual 14,5 mEq/l; CO_2 total = 15,55 mEq/l;

Cealaltă dreaptă (RR') ilustrează o acidoză respiratorie parţial compensată de o creştere a bicarbonaţilor: pH actual = 7,32; PCO_2 = 70 mmHg; exces baze = +3; baze tampon 55; bicarbonat standard 26 mEq/l; bicarbonat actual 35 mEq/l; CO_2 total 37,1 mEq/l.

Bicarbonatul actual reprezintă conţinutul în bicarbonaţi din sîngele circulant al bolnavului şi depinde de PCO_2 actuală, adică de funcţia respiratorie. Evident, în condiţii normale, bicarbonatul actual este egal cu bicarbonatul standard. Creşterea bicarbonatului actual, pe lîngă valori normale ale bicarbonatului standard, indică o reacţie compensatorie într-o acidoză respiratorie, iar o scădere a bicarbonatului actual, în prezenţa unui bicarbonat standard normal, este o caracteristică a reacţiilor compensatorii într-o alcaloză respiratorie (vezi tabel 7—2 şi fig. 7—6). De notat că reacţiile compensatorii nu înseamnă încă o compensare izbutită. Bicarbonatul actual se citeşte pe nomogramă în punctul în care o linie, în unghi de 45°, pornită de la punctul pH-ului actual, intersectează axa bicarbonatului standard.

Conţinutul total în CO_2 al sîngelui se obţine adunînd bicarbonatul actual cu produsul dintre PCO_2 şi factorul 0,03.

Bazele tampon reprezintă suma anionilor tampon din sînge (proteine⁻, bicarbonaţi⁻, hemoglobină⁻) care pot accepta H^+. Concentraţia bazelor tampon exprimată în mEq/l se citeşte pe nomogramă în punctul în care dreapta, obţinută din relaţia dintre pH şi PCO_2, intersectează scala curbă a bazelor tampon aflată în porţiunea de sus a nomogramei (vezi fig. 7—7). Pentru un conţinut în hemoglobină de 15g%, valoarea normală a acestui parametru este de 48 mEq/l.

Bazele în exces reprezintă cantitatea de acizi sau baze care ar putea restabili echilibrul acido-bazic într-un litru de sînge la un PCO_2 de 40 mmHg. Evident această valoare va fi negativă în acidoză şi pozitivă în alcaloză, oscilînd, la normali, între limitele de +2,3 şi −2,3 mEq/l. Bazele în exces se obţin din nomogramă, la punctul în care, dreapta, construită pe baza relaţiei dintre pH şi PCO_2, întretaie scala încurbată din partea de jos a nomogramei. Acest parametru este de o deosebită utilitate pentru conducerea terapiei.

Reproducem în fig. 7—7 nomograma lui Siggaard-Anderson şi cîteva exemple ilustrative de evaluare a echilibrului acido-bazic cu metoda Astrup.

TERAPIA DE CORECŢIE A DEZECHILIBRULUI ACIDO-BAZIC

În principiu corectarea echilibrului acido-bazic se va efectua în funcţie de etiologie şi de mecanismul de producere. Astfel, într-o acidoză de origine respiratorie se va încerca o ameliorare a funcţiei pulmonare prin expectorante şi antibiotice. De asemenea într-o acidoză metabolică se va acţiona în primul rînd asupra cauzei care a dus la dezechilibru, tratîndu-se diabetul sau insuficienţa renală.

Desigur în anumite condiţii, şi mai ales în acidozele metabolice grave, se poate interveni cu o terapie de echilibrare, administrîndu-se bicarbonaţi. Administrarea de bicarbonat de sodiu trebuie făcută cu prudenţă în insuficienţa renală pentru a se evita supraîncăr-

carea aparatului circulator. În aplicarea terapiei se va ţine cont şi de faptul că tulburarea echilibrului acido-bazic nu afectează doar sîngele, ci şi celelalte compartimente ale fluidelor din organism. S-a apreciat, pe baze empirice, că pentru corectarea unei acidoze este nevoie să se administreze o cantitate de baze (bicarbonat) egală cu produsul dintre jumătatea greutăţii corporale, exprimată în kg, şi excesul de baze (care fiind o valoare negativă în acidoze, indică de fapt deficitul de baze). De exemplu, la un subiect de 60 kg, cu o acidoză diabetică, se constată o valoare „baze în exces" de — 10 mEq/l. Se va administra deci 30 × 10 = 300 mEq/bicarbonat, adică cca 25,5 g de bicarbonat. În afară de cazul că acidoza este severă, nu este recomandabil să se efectueze corectarea bruscă a dezechilibrului acido-bazic. Este mai bine să se administreze doar jumătate din cantitatea indicată de calcul şi să se determine din nou constantele echilibrului acido-bazic, urmînd ca ulterior să se efectueze o nouă corecţie.

Nu trebuie uitat că tulburările echilibrului acido-bazic survin cel mai frecvent în cadrul unor tulburări hidroelectrolitice, care afectează osmolaritatea sau volumul lichidului extracelular. Aşa de exemplu, alcaloza din stenoza pilorică va răspunde favorabil la administrarea de clorură de sodiu în infuzii intravenoase care corectează scăderea volumului lichidului extracelular şi opreşte secreţia anormal crescută de aldosteron. Întrucît, alcaloza se însoţeşte de o depletiţie de potasiu se va acţiona şi în acest sens. Aşa cum s-a mai arătat (pag. 56), uneori, alcaloza extracelulară este consecinţa unei depletiţii primare de potasiu. În aceste cazuri, fenomenele vor ceda doar după administrarea de potasiu. Mai amintim că în cursul terapiei unei acidoze diabetice se poate instala o hipopotasemie severă (4, 5, 8, 13).

GAZELE DIN SÎNGE

Pentru evaluarea gravităţii unei acidoze respiratorii, cunoaşterea presiunii parţiale a $O_2(PO_2)$ este tot atît de importantă ca şi datele referitoare la PCO_2, pH şi HCO_3^- · PO_2 în sîngele arterial este de cca 100 mmHg, corespunzînd unei saturaţii cu O_2 de 94—100%.

În mod normal, schimburile respiratorii la nivel alveolar implică pierderea de CO_2 şi cîştig de O_2. Cu toate acestea, în condiţii patologice, hipoxia nu e întotdeauna însoţită de o retenţie de CO_2. Cauzele acestei discordanţe sînt următoarele:

1) CO_2 este de aproximativ 20 de ori mai solubil în apă decît O_2. Astfel, în edemul pulmonar, PO_2 în sînge scade, întrucît trans-

portul de oxigen este stînjenit de lichidul de edem. Ventilaţia pulmonară este însă crescută din cauza stimulării produse de hipoxie şi din cauza distensiei peretelui alveolar, iar CO_2, care este mai difuzibil, poate fi îndepărtat. Se ajunge astfel la o scădere a PO_2 în prezenţa unei PCO_2 normal sau chiar scăzut.

2) Hiperventilaţia cauzată de o iritaţie a centrului respirator în prezenţa unui conţinut normal de oxigen al aerului respirator, nu modifică în mod semnificativ conţinutul de oxigen al sîngelui, al cărui transport este limitat de cantitatea de hemoglobină. Procesul arătat mai sus poate duce însă la scăderea PCO_2.

Ţinînd cont de aceste particularităţi ale transportului de gaze în sînge se poate explica comportarea diferită a gradului de oxigenare a sîngelui şi a PCO_2 în diverse condiţii patologice, cum ar fi pneumoniile, atelectaziile, sclerozele pulmonare sau infiltraţiile parenchimului pulmonar. În toate aceste condiţii, procesul patologic nu afectează în acelaşi mod sau în acelaşi grad toate alveolele. În caz de pneumonii sau atelectazii limitate, unele alveole pot fi neafectate, iar creşterea ventilaţiei asigură la acest nivel o bună oxigenare a sîngelui, scăzînd în acelaşi timp PCO_2. Dat fiind însă că sîngele, care vine de la alveolele intacte, se amestecă, în venele pulmonare, cu sîngele provenit din zonele în care oxigenarea e compromisă, conţinutul în oxigen al acestui sînge e totuşi sub valorile normale. Atunci cînd se produce însă o obstrucţie extinsă a bronşiolelor, aerul alveolar pierde O_2 şi se încarcă cu CO_2, iar hiperventilaţia, dacă nu este în măsură să învingă acest obstacol, nu va putea preveni scăderea oxigenării şi creşterea PCO_2. De asemenea, hiperventilaţia nu poate compensa lipsa de irigaţie sau staza sanguină la nivelul alveolelor. O perturbare gravă a mecanicii respiratorii va afecta grav ventilaţia, perturbînd schimburile de gaze la nivel alveolar. În funcţie de comportarea PO_2 şi a PCO_2 în sîngele arterial, afecţiunile pulmonare pot fi deci grupate în două categorii:

1) PO_2 scăzut, PCO_2 normal sau scăzut, se constată în: edem pulmonar, pneumonie francă lobară, atelectazie pulmonară limitată, fibroze sau infiltraţii limitate ale plămînilor.

2) PO_2 scăzut, asociat cu PCO_2 crescut, se observă în poliomielita care afectează centrul respirator, spasm laringian, astm sever, bronşită cronică şi emfizem, pneumonii sau bronhopneumonii extinse, atelectazii sau fibroze pulmonare extinse. Acelaşi aspect se poate întîlni şi în obezitate excesivă (sindrom Pickwick) sau spondilită anchilopoietică, cînd se perturbă mişcările cutiei toracice.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. ASTRUP, P., *A new approach to acid-base metabolism*, Clinical Chemistry, 1961, 7, 1.
2. BACIU, I., *Fiziologie*, Editura didactică şi pedagogică, Bucureşti, 1970.
3. BERLINER, R. W., *Ion exchange mechanisms in the nephron*, Circulation, 1960, 2, 892.
4. BLUMENTHAL, A.S. (ed.), *Symposium on acid-base balance*, Arch. Int. Med., 1965, 116, 647.
5. CHRISTENSEN, H. N., *Body Fluids and Acid-Base Balance*, Ed. W. B. Saunders, Philadelphia, 1964.
6. GANONG, W. F., *Review of Medical Physiology*, Lange Medical Publications, Los Altos, California, 1971.
7. HARPER, H. A., *Review of Physiological Chemistry*, 14-th Edition, Lange Medical Publications, Los Altos, California, 1973.
8. HOFFMAN, W. S., *Clinical Chemistry of potasium*, J. A. M. A., 1950, 144, 1157.

8 bis NECHAY, B. R., *Biochemical basis of diuretic action.*, The Journal of Clinical Pharmacology, 1977, 17, 626.

9. PITTS, R. F., *The role of ammonia production in regulation of acid-base balance*, New England J. Med., 1971, 284, 32.
10. SIGGAARD-ANDERSON, O., *The Acid-Base Status of the Blood*, Ed. Munksgard, Coppenhagen, 1966.
11. STEINMETZ, P. R., *Excretion of acid by the Kidney: Functional organization and cellular aspects of acidification*, New England J. Med., 1968, 278, 1102.
12. TEODORESCU EXARCU, I. *Explorarea paraclinică*, Ed. medicală, Bucureşti, 1970.
13. WELT, L. G., *Clinical Disorders of Hydration and Acid-Base Equilibrium*, Ed. Little Brown and Comp., Boston, 1959.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Procesul de tamponare constă din:
   A. Fixarea sub formă de acid slab a H^+ proveniţi din disocierea unui acid puternic şi avînd drept consecinţă reducerea hidrogen ionilor liberi şi menţinerea relativ constantă a pH-ului.
   B. Îndepărtarea H^+ din organism
   C. Ambele procese
   D. Nici unul

2. Anhidraza carbonică este o enzimă care se găseşte în:
   A. Eritrocite
   B. Celulele tubulare renale
   C. Celulele parietale ale mucoasei gastrice
   D. În toate aceste celule

3. În comparaţie cu oxihemoglobina, hemoglobina redusă este un acid:
   A. Mai puternic
   B. Mai slab
   C. Cu o constantă de disociere identică
   D. Are caracter neutru

4. Stabiliţi corespondenţa între schimburile de electroliţi care survin în cadrul fenomenului de membrană a lui Hamburger şi nivelul la care aceste modificări au loc:

A. Pătrunderea ionului Cl^- în eritrocite, ieşirea ionului HCO_3^- din eritrocite	I. La nivelul ţesuturilor
B. Ieşirea ionului Cl^- din eritrocite şi pătrunderea ionului HCO_3^- în eritrocite	II. La nivelul plămînilor

5. Celulele tubulare renale intervin în reglarea echilibrului acido-bazic prin:
   A. Secreţia de H^+ proveniţi din disocierea acidului carbonic, produs sub acţiunea anhidrazei carbonice

B. Transformarea fosfatului disodic în fosfat monosodic
C. Secreţia de amoniac la nivelul tubilor distali
D. Toate aceste procese
E. Nici unul

6. Acidoza intracelulară şi alcaloza extracelulară poate fi consecinţa a:
A. Pierderilor îndelungate de potasiu
B. Hiperpotasemiei
C. Inhibării anhidrazei carbonice de către diureticele de tipul acetazolamidei.

7. Stabiliţi corespondenţa între tipul de dereglare a echilibrului acido-bazic şi bolile în care se poate întîlni:

A. Acidoză respiratorie	I. Diabet zaharat cu cetonemie
B. Acidoză metabolică	II. Emfizem pulmonar
C. Alcaloză respiratorie	III. Stenoză pilorică
D. Alcaloză metabolică	IV. Afecţiuni cerebrale însoţite de polipnee

8. Stabiliţi corespondenţa între datele de laborator relatate mai jos şi tipul de dezechilibru acido-bazic pe care îl caracterizează:

A. pH = 7,40, PCO_2 = 40 mmHg bicarbonat actual 24,6 mEq/l; potasiu seric 5 mEq/l	I. Acidoză metabolică decompensată
B. pH = 7,17, PCO_2 = 32 mmHg bicarbonat actual 11,20 mEq/l; potasiu seric 5,9 mEq/l	II. Alcaloză metabolică decompensată
C. pH = 7,55, PCO_2 = 50 mmHg bicarbonat actual 30 mEq/l; potasiu seric 3,6 mmHg	III. Acidoză respiratorie decompensată
D. pH = 7,29, PCO_2 = 64 mmHg bicarbonat actual 30 mEq/l; potasiu seric 5,8 mEq/l	IV. Normal

9. Stabiliţi corespondenţa între reacţiile compensatorii şi tipul de dezechilibru acido-bazic în care survin:

A. Creşterea eliminării de CO_2 pe cale pulmonară	I. Acidoză respiratorie
B. Scăderea excitabilităţii centrului respirator şi diminuarea eliminărilor de CO_2	II. Acidoză metabolică de cauză renală

C. Creşterea eliminării de H^+ prin urină şi reabsorbţia crescută a bicarbonaţilor	III. Alcaloză respiratorie
D. Scăderea eliminării urinare a H^+ şi reducerea formării de bicarbonaţi	IV. Alcaloză metabolică

10. Hipopotasemia poate fi:
   - A. O cauză a alcalozei extracelulare
   - B. O consecinţă a alcalozei de durată
   - C. Ambele procese
   - D. Nici unul

VIII METABOLISMUL FIERULUI ŞI CUPRULUI

Diversele combinaţii ale fierului cu porfirinele intervin în transportul, stocarea şi activarea oxigenului în vederea asigurării proceselor de respiraţie tisulară. Semnificaţia fiziologică a cuprului este mai puţin cunoscută. Există însă dovezi că absorbţia fierului, transportul acestuia între plasmă şi ţesuturi şi înglobarea lui în hemoglobină sînt favorizate de cupru. Din acest motiv s-a găsit justificată prezentarea în acelaşi capitol a metabolismului fierului şi cuprului.

DISTRIBUŢIA FIERULUI ÎN ORGANISM. COMPUŞI CONŢINÎND FIER

Aşa cum reiese din tabelul 8—1, cea mai mare parte a celor 4—5 g de fier, conţinute în organismul unui adult, se găseşte sub formă de combinaţii cu porfirinele, respectiv cu protoporfirina 9, alcătuind compusul denumit hem (feroprotoporfirina 9). Moleculele de hem se combină cu diferite proteine, alcătuind hemoproteinele (hemoglobină, mioglobină şi enzime heminice), care reprezintă forma funcţional activă a fierului. Aproximativ 25% din fierul organismului reprezintă forma de stocare, legată de proteine, în feritină şi hemosiderină, iar mai puţin de 1% se găseşte în plasmă şi lichidul interstiţial, legat de o proteină trnsportoare, numită transferină (siderofilină). Aproximativ 6% din fierul organismului constituie o formă neprecizată, fiind probabil fixat de fosfaţi şi aminoacizi, sau este rezultatul unor erori de determinare (2, 8, 12, 25).

Hemoglobina, o proteină cu greutate moleculară de 67.000, localizată în hematii, este alcătuită din patru molecule de hem, legate de cele patru lanţuri peptidice ale globinei (vezi pag. 119). Fiecare gram de hemoglobină conţine 3,38 mg fier, iar rolul fiziologic al acestui compus constă în fixarea reversibilă a oxigenului, pe care-l transportă, prin sînge, de la plămîni la ţesuturi.

Tabel 8–1

Repartizarea fierului în organism

Forma sub care se găsește	mg Fe	Procent din fierul total	Localizare	Funcția
A. Fier legat de porfirine				
1. Hemoglobină	2600	65%	eritrocite	Transportul de oxigen
2. Mioglobină	130	3,25%	mușchi	Stocarea de oxigen în musculatură
3. Fermenții celulari heminici	aprox. 10	0,25%	celule	Respirația celulară
B. Fier nelegat de porfirine				
1. Feritină	520	13%	ficat, splină, măduvă osoasă	Depozit de fier
2. Hemosiderină	480	12%		
3. Transferină (siderofilină)	7	0,17%	plasmă și lichid interstițial	Transportul fierului
C. Rest nedeterminat (Formă neprecizată)	aprox. 235	6,33%	?	?
Total	4000 mg%	100%		

Mioglobina este o proteină musculară, cu greutate moleculară de numai 17.000, fiind alcătuită dintr-o moleculă de hem legată de o moleculă de proteină, şi are rolul de a stoca, la nivelul musculaturii, oxigenul desprins de pe hemoglobină. De fapt afinitatea pentru O_2 a mioglobinei este de şase ori mai mare decît a hemoglobinei. Rezerva de oxigen fixată pe mioglobină este deosebit de importantă pentru asigurarea proceselor oxidative în cursul efectuării unui efort intens într-un mediu sărac în oxigen. Conţinutul foarte ridicat în mioglobină al musculaturii mamiferelor marine (foca, morsa, balena) reprezintă probabil un mecanism adaptativ care le permite efectuarea de eforturi fizice prelungite sub apă. Conţinutul în mioglobină al musculaturii creşte dealtfel cu antrenamentul şi scade în atrofiile musculare.

Fermenţii heminici celulari (citocromii şi citocromoxidaze) localizaţi în toate celulele, la nivelul mitocondriilor, sînt tot hemoproteine. Spre deosebire de hemoglobină şi mioglobină, citocromoxidaza nu fixează reversibil oxigenul, ci îl activează, cedîndu-i electroni, şi permiţînd astfel combinarea lui cu hidrogenul, desprins de pe substrat sub acţiunea dehidrogenazelor. Transferul acestui hidrogen desprins de pe substrat, şi implicit transferul de electroni, se realizează prin sistemul coenzimelor oxidoreducătoare şi a citocromilor (vezi fig. 8—1). În acest fel, oxigenul devine ultimul acceptor de electroni şi respectiv de hidrogen, formîndu-se apa de oxidaţie.

Aşa cum reiese din fig. 8—1, sistemul citocromi-citocromoxidază asigură transferul de electroni şi activarea oxigenului prin oscilaţii ale atomului de fier între Fe^{+++} şi Fe^{++}, în cursul oxidaţiei şi redu-

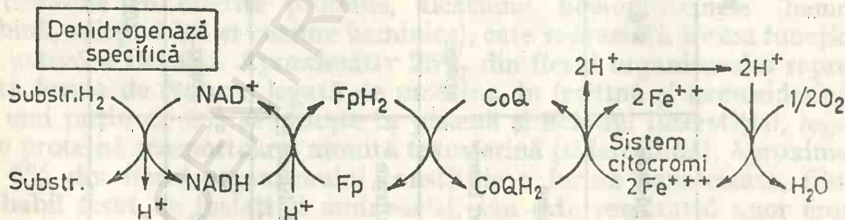


Fig. 8—1. Reprezentare schematică a intervenţiei sistemului citocromi-citocromoxidază în procesele de oxidoreducere la nivelul mitocondriilor. Hidrogenul desprins de pe substrat, sub acţiunea unor dehidrogenaze specifice substratului respectiv, este transportat în sistemul coenzimelor oxidoreducătoare NAD (nitotinadenindinucleotid) Fp (flavoproteine) şi CoQ (coenzima Q avînd un nucleu chinonic activ) spre oxigenul activat de citocromoxidază. În figură nu este reprezentată secvenţa intervenţiei diverşilor citocromi şi a citocromoxidazei (care conţine şi cupru). Această secvenţă decurge în ordinea crescîndă a potenţialului redox; citocrom b → citocrom c → citocrom a → → citocromoxidază → activarea oxigenului.

cerii. Din acest motiv, blocarea fierului din enzimele heminice celulare de către oxidul de carbon sau acidul cianhidric opreşte respiraţia celulară şi este incompatibilă cu viaţa. Tot hemoproteine sînt şi peroxidazele şi catalazele din sînge şi ţesuturi, care intervin de asemenea în procesele de oxidoreducere. Este de notat existenţa unor enzime în care fierul nu este fixat sub formă de hem şi este legat de proteină prin grupări conţinînd sulf. Aşa sînt de exemplu NADH-dehidrogenaza, xantinoxidaza, fenilalaninhidroxilaza, tirozinhidroxilaza şi unele enzime cu rol în hidroxilarea hormonilor steroizi.

Feritina este alcătuită din apoferitină, o proteină cu greutate moleculară de aproximativ 460.000, în care sînt cuprinse incluziuni de hidroxid feric. Fierul reprezintă 20—24% din greutatea moleculei de feritină şi este atît de fin dispersat încît, la coloranţii pentru fier, nu se evidenţiază, sub formă de granulaţii vizibile, la microscopul optic. Feritina este localizată în celulele măduvei osoase, mucoasa intestinală, tubii renali, vilozităţile placentei şi ficat şi are, în primul rînd, rolul de a forma depozitele de fier şi de a limita transportul de fier la nivelul diverselor bariere ale organismului (bariera intestinală, bariera placentară). Există dovezi referitoare la creşterea sintezei de apoferitină în celulele organelor amintite, sub influenţa aportului crescut de fier. Acest mecanism de inducere se petrece prin intermediul formării de ARN mesager (15, 25).

Hemosiderina provine din feritină, dar diferă de aceasta printr-un conţinut mai ridicat de fier (25—50%) şi prin faptul că apoferitina este denaturată. În acest fel, complexul fier-proteină devine insolubil în mediu apos şi formează granulaţii suficient de mari spre a deveni vizibile la microscopul optic. Aceste granulaţii sînt evidenţiabile mai ales după colorarea lor în albastru cu fericianură de potasiu (reacţia albastru de Prusia). Hemosiderina se formează din feritină, oridecîteori depunerile tisulare de fier depăşesc viteza de formare a apoferitinei.

Transferina (siderofilina) este o betaglobulină serică, cu greutate moleculară de 88.000, sintetizată în ficat, şi are rolul de a transporta fierul plasmatic. Fiecare moleculă de transferină poate fixa labil doi atomi de fier (Fe^{+++}), pe care îi cedează în mod preferenţial măduvei osoase. Cedarea fierului de pe transferină la nivelul altor organe (de exemplu la nivelul ficatului) decurge mult mai încet şi doar în cazul unui grad înalt de saturare cu fier a transferinei. De notat că schimburile de fier între transferină şi celulele diverselor organe, şi în special cedarea de fier către celulele seriei eritrocitare, sînt favorizate de posibilitatea transferinei de a trece din plasmă în lichidul interstiţial. În mod obişnuit, transferina conţine doar o treime din fierul pe care l-ar putea fixa în cazul unei saturări maximale a acestei proteine cu atomi de fier. Capacitatea totală de fixare a

fierului de către transferină poate fi dedusă prin calcul, știindu-se că fiecare moleculă (cu greutatea moleculară de 88.000) poate fixa doi atomi de fier (2 × 55,85). Prin urmare cele aproximativ 260 mg transferină, conținută în 100 ml plasmă, pot fixa 330 μg fier. Această valoare, obținută prin calcul, corespunde dealtfel cu dozările capacității totale de fixare a fierului efectuate în laborator. Întrucît concentrația fierului plasmatic este de aproximativ 100—120 μg/100 ml, rezultă că transferina prezintă o capacitate latentă de fixare de încă 210—230 μg fier/100 ml plasmă. Alături de cele aproximativ 8 g transferină, conținută în cei trei litri de plasmă, mai există încă o cantitate similară de 7—8 g diluată în cei 8—9 litri de lichid interstițial și care se află în echilibru cu transferina plasmatică. Pe lîngă o saturare obișnuită de 30—40% a transferinei, cele 16 g din această proteină, aflate în organism, fixează aproximativ 7 mg fier (vezi tabelul 8—1), iar în caz de saturare maximă, pot lega pînă la 20 mg fier (12, 16, 25).

CIRCUITUL FIERULUI ÎN ORGANISM

Introducerea studiilor cu fier marcat (^{59}Fe) au adus o contribuție esențială la descifrarea mecanismelor de care depinde economia fierului în condiții normale și patologice. Pentru înțelegerea stărilor de carență în fier sau de acumulare patologică a fierului în organism este necesară o trecere în revistă a proceselor de absorbție, transport, stocare, utilizare și excreție a fierului. În funcție de aceste procese se pot deduce apoi necesitățile în fier ale organismului, în diverse situații. Atragem atenția de la bun început că pierderile fiziologice de fier sînt reduse și neinfluențate de cantitatea de fier din organism. Cu alte cuvinte, eliminările de fier se mențin în limite restrînse de 0,7—2,4 mg/24 ore, indiferent dacă în organism există un exces sau un deficit de fier. În consecință, economia fierului se reglează mai ales prin adaptarea mecanismelor de absorbție.

Absorbția fierului

Alimentele cele mai bogate în fier sînt carnea, viscerele, peștele, gălbenușul de ou, ardeiul, spanacul și nucile, iar o dietă obișnuită aduce un aport zilnic de aproximativ 12—18 mg fier. Din această cantitate, bărbatul adult absoarbe doar o mică fracțiune de aproximativ 1 mg/zi, care, dealtfel, este suficientă pentru compensarea pierderilor fiziologice. Procentul de fier absorbit crește atunci cînd există

o necesitate sporită de fier, ca de exemplu la copil, la femeia tînără, care pierde sînge prin menstruaţii, sau în ultima perioadă a sarcinii (vezi pag. 88). Absorbţia digestivă poate creşte pînă la 40% din doza de fier administrată în carenţele exprimate de fier. Este remarcabilă constatarea că absorbţia de fier este crescută nu numai în anemiile feriprive dar şi în anemiile hemolitice sau în cele de tip Biermer, în care nu există o depleţie de fier. S-ar părea deci că hipoxia, consecutivă oricărei anemii, constituie un stimul pentru creşterea absorbţiei de fier (15). Se ştie că absorbţia fierului are loc în duoden şi în porţiunea superioară a jejunului, dar mecanismele care reglează absorbţia de fier sînt încă incomplet elucidate. Se poate vorbi însă de factori care acţionează în lumenul tractului digestiv şi de factori care ţin de mucoasa intestinală. S-a arătat astfel că fierul din alimente se găseşte mai ales sub formă ferică (Fe^{+++}), iar absorbţia se face sub formă feroasă (Fe^{++}) sau, în cazul ingestiei de hemoglobină, sub formă de hem. Toţi factorii care permit disocierea ionilor de fier din complexele organice sau care acţionează ca reducători, transformînd fierul trivalent în fier bivalent, vor favoriza deci absorbţia. În acest sens, intervin acidul clorhidric şi vitamina C. Pe de altă parte, alcalinitatea sucului duodenal, cauzată în special de un flux pancreatic crescut precum şi de alimentele bogate în fosfaţi, aşa cum sînt cerealele şi produsele lactate, reduc absorbţia fierului. Recent s-a descoperit în sucul gastric o glicoproteină, gastroferina, care fixează ionii de fier la un pH-acid, favorizează reducerea lor la forma feroasă şi previne precipitarea sărurilor de fier sub formă neabsorbabilă la un pH alcalin, în sucul duodenal (25). Fierul din hemoglobină se absoarbe sub formă de hem, care este apoi degradat, în mucoasa intestinală, eliberîndu-se ionii de fier.

Controlul exercitat de mucoasa intestinală asupra absorbţiei de fier pare a fi în legătură cu procesul de combinare a ionilor feroşi cu apoferitina din celulele mucoasei intestinale şi formarea consecutivă de feritină, conţinînd fier trivalent. După Granick (8), formarea de feritină ar constitui o etapă intermediară în absorbţia fierului, iar saturarea apoferitinei cu fier ar produce o blocare a absorbţiei acestui element. Ulterior, feritina din mucoasa intestinală ar ceda fierul, care trece astfel în sînge. Teoria lui Granick a fost revizuită, iar astăzi se consideră că absorbţia de fier nu implică formarea tranzitorie de feritină. Dimpotrivă, fierul fixat sub formă de feritină este scos din procesul de absorbţie şi se pierde din organism, atunci cînd celulele care l-au fixat se descuamează (25). Cînd există o creştere a nevoilor de fier, sau în caz de hipoxie, formarea de feritină este diminuată şi o proporţie mai mare a fierului din lumenul intestinal se absoarbe. Pe de altă parte, aportul crescut de fier induce sinteza

de apoferitină, care fixează fierul şi limitează absorbţia. Există indicii că nivelul transferinei din plasmă şi din lichidul interstiţial, care scaldă celulele mucoasei intestinale, intervine şi el în reglarea absorbţiei de fier. Aşa de exemplu o concentraţie crescută a transferinei şi o creştere a capacităţii latente de fixare a fierului favorizează absorbţia de fier, pe cînd o scădere a transferinei, şi mai ales o saturare exprimată a acesteia, ar reduce absorbţia. Toate aceste mecanisme nu explică însă pe deplin reglarea absorbţiei de fier în condiţii fiziologice şi pierderea controlului acestei absorbţii în cursul hemocromatozei primare (vezi pag. 101).

Transportul plasmatic al fierului

Aşa cum reiese din fig. 8—2, transportul fierului de la mucoasa intestinală spre organele de depozit şi spre organele producătoare de hemoproteine (hemoglobină, mioglobină, fermenţi heminici) se face cu ajutorul transferinei. Întrucît, fierul legat de transferină este

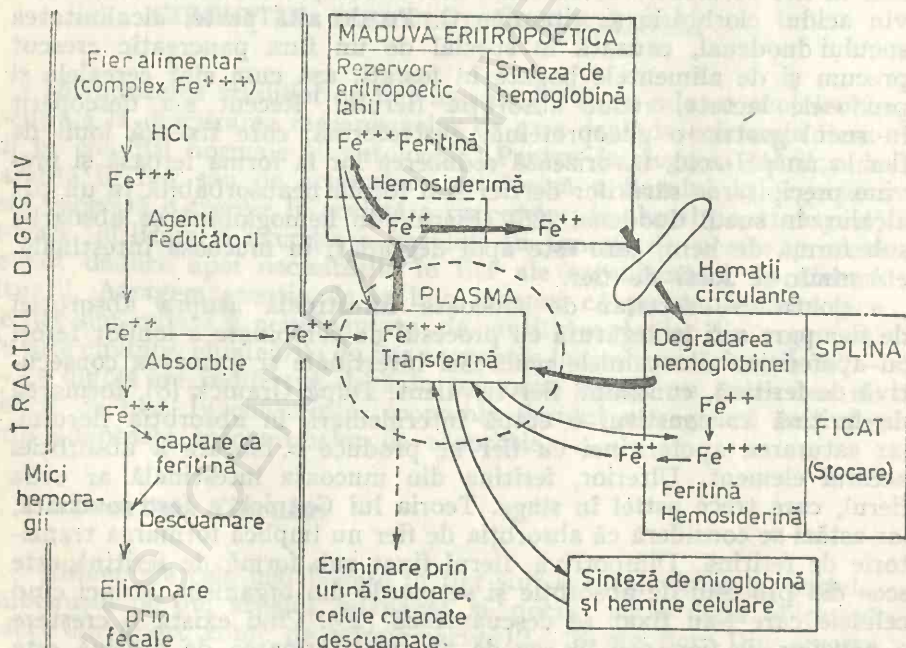


Fig. 8—2. **Reprezentare schematică a circuitului fierului în organism. Grosimea săgeţilor reprezintă o evaluare aproximativă a intensităţii transportului.**

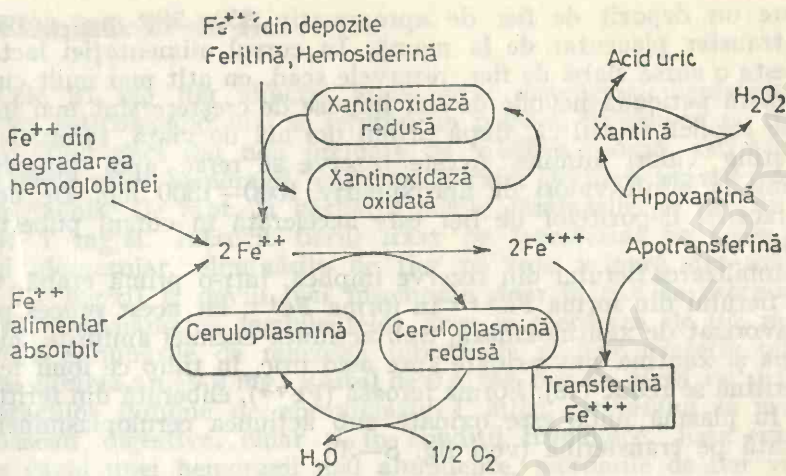


Fig. 8—3. Reprezentare schematică a mecanismului biochimic de mobilizare a fierului din depozite, mediat de xantinoxidază, şi a procesului de încărcare a fierului pe transferină, favorizat de ceruloplasmină.

captat mult mai rapid de elementele seriei eritrocitare din măduvă decît de alte celule din organism, acest mod de transport asigură dirijarea preferenţială a fierului spre celulele producătoare de hemoglobină şi împiedică difuzarea anarhică a atomilor de fier în ţesuturi (12, 16, 22). Dealtfel, fierul liber, nefixat pe transferină, este toxic, S-a putut preciza (20) că încorporarea fierului în transferină implică o prealabilă transformare a fierului bivalent (Fe^{++}) în fier trivalent (Fe^{+++}), iar acest proces este catalizat de ceruloplasmină, o alfa$_2$ globulină conţinînd cupru, care exercită o activitate de feroxidază (vezi fig. 8—3). Dealtfel, accelerarea transportului de fier, aşa cum survine de exemplu în graviditate, se însoţeşte de o creştere atît a transferinei cît şi a ceruloplasminei.

Formarea depozitelor de fier

Stocarea fierului în organism se face sub formă de feritină şi hemosiderină conţinînd fier trivalent (Fe^{+++}). Principalele organe capabile să înmagazineze fierul sînt splina, ficatul şi măduva osoasă. La adult, sursa fierului din depozite este reprezentată mai ales de hemoglobina degradată în sistemul reticuloendotelial şi doar, în mică măsură, de fierul absorbit din alimentaţie (vezi fig. 8—2). Nou-născu-

tul are un depozit de fier de aproximativ 350—380 mg, provenit prin transfer placentar de la mamă. În cursul alimentației lactate, care este o sursă slabă de fier, rezervele scad, cu atît mai mult cu cît în această perioadă nevoile de fier impuse de creștere sînt mai mari. Așa se explică faptul că, după primii doi ani de viață, rezervele de fier ating valori minime. Aceste rezerve se refac apoi progresiv, atingînd la adult valori de aproximativ 1000—1300 mg. De notat că refacerea depozitelor de fier este accelerată în cursul pubertății (8,12).

Mobilizarea fierului din rezerve implică, într-o primă etapă, trecerea fierului din forma Fe^{+++} în forma Fe^{++}, iar acest proces pare a fi favorizat de xantinoxidază. Sub acțiunea enzimei amintite, hipoxantina și xantina sînt oxidate spre acid uric, în timp ce ionii ferici din feritină se reduc (19). Forma feroasă (Fe^{++}), eliberată din feritină, trece în plasmă unde este oxidată sub acțiunea ceruloplasminei și încărcată pe transferină (vezi fig. 8—3).

Utilizarea fierului

Studiile cu izotopi radioactivi (^{59}Fe) au demonstrat că peste 90%, din cele 35 mg fier transportate zilnic în plasmă, sînt captate la nivelul măduvei osoase. Din aceste 32 mg fier captate zilnic în măduvă, doar 21 mg (aproximativ 68%) sînt utilizate pentru formarea de hemoglobină, iar restul de 11 mg se reîntoarce în plasmă. Se admite astfel existența unui rezervor labil de fier eritropoietic, în echilibru dinamic cu plasma (23, 25). Conform acestei ipoteze, fierul plasmatic, captat în măduvă, este fixat labil în stroma elementelor tinere din seria eritrocitară, iar fracțiunea neutilizată pentru o sinteză promptă de hemoglobină este incorporată în feritină. Această feritină din stroma elementelor tinere ale seriei roșii poate fi cedată celulelor sistemului reticulo-endotelial din măduvă, iar din acestea, fierul se reîntoarce în plasmă, fixîndu-se pe transferină. Fierul incorporat în hemoglobină se reîntoarce în sînge, atunci cînd hematiile sînt lansate în circulație. Intervalul de timp între captarea de către măduva osoasă a fierului radioactiv din plasmă și reîntoarcerea radioactivității în sînge, sub formă de hemoglobină, se numește timp de hemoglobinizare efectivă și este de 24—43 ore (23). Studiile cu ^{59}Fe au mai arătat că fierul utilizat zilnic pentru sinteza de mioglobină și fermenți heminici celulari nu depășește 1 mg/zi, iar schimburile zilnice între fierul plasmatic și fierul din depozite (exceptînd rezervorul eritropoietic labil) sînt tot de aproximativ 1 mg/zi.

Eliminările de fier

Cele 21 mg fier eliberat zilnic prin distrugerea hematiilor în sistemul reticuloendotelial se reîntorc în plasmă, fixîndu-se pe transferină, fiind apoi din nou preluate de măduva osoasă, astfel încît, în absenţa unor hemoragii, circuitul fierului decurge practic într-un sistem închis. De fapt, la bărbatul adult, eliminările de fier nu depăşesc 1 mg/zi. Întrucît fierul fixat pe transferină nu trece prin filtrul glomerular, eliminările de fier pe cale urinară sînt minime (sub 0,1 mg/zi) şi devin mai însemnate doar în caz de proteinurie masivă. Descuamarea tegumentelor duce la pierderea de 0,2 mg/zi, iar prin eliminările de mucoasă intestinală şi prin excreţia biliară se mai elimină alte 0,2 mg. Restul de 0,5 mg fier se pierd cu prilejul hemoragiilor minime de aproximativ 1 ml/zi, survenind la nivelul mucoaselor digestive, chiar şi în condiţii fiziologice. Este evident că în cazul unei hemoragii mai abundente, pierderile de fier vor fi proporţional crescute, iar economia fierului nu se mai desfăşoară într-un circuit închis (5, 8, 25).

Necesităţile de fier ale organismului

Cunoaşterea proceselor de absorbţie, transport, stocare, utilizare şi eliminare a fierului, realizată mai ales prin studii cu fier radioactiv, permit atît stabilirea unei balanţe a fierului plasmatic (vezi tabel 8—2), cît şi a necesităţilor de fier ale organismului în diverse

Tabel 8—2

Bilanţul fierului în plasmă

Fier pătruns zilnic în plasmă		Fier scos zilnic din plasmă	
Absorbţie alimentară	1 mg/zi	Excreţie şi pierderi	1 mg/zi
Mobilizare din depozite	1 mg/zi	Captare în depozite	1 mg/zi
Schimb cu lichidul extracelular	1 mg/zi	Schimb cu lichidul extracelular	1 mg/zi
Eliberarea din rezervorul eritropoietic labil (Fier medular neincorporat în hemoglobină)	11 mg/zi	Captare în rezervorul eritropoietic labil din măduva osoasă	32 mg/zi
Eliberarea din hemoglobina eritrocitelor distruse în SRE	21 mg/zi		
Total:	35 mg/zi	Total:	35 mg/zi

condiţii fiziologice (tabel 8—3). Aşa cum reiese din tabelul 8—3, necesităţile de fier ale unui bărbat adult de 70 kg nu depăşesc 1 mg/zi, adică tocmai cantitatea eliminată zilnic prin procesele amintite mai sus. Nevoile de fier sporesc în perioada de creştere şi în special în cursul pubertăţii. Pierderea de sînge menstrual (35—70 ml/lună) reprezintă o nevoie de fier în plus, iar la fetiţele care continuă să crească şi după instalarea menstruaţiei, necesităţile de fier sînt aproape de trei ori mai mari decît cele ale bărbatului adult sau ale femeii trecute de menopauză.

Tabel 8—3

Necesităţile de fier ale organismului în diverse condiţii fiziologice

Starea fiziologică	Particularităţi ale metabolismului fierului	Necesităţi zilnice
Bărbat adult sau femeie trecută de menopauză	Excretă zilnic 1 mg fier	1 mg
Bărbat adult donator de sînge (1,5 l/an)	Excretă zilnic 1 mg fier. Pierde anual 750 mg fier. Pierderile suplimentare de fier raportate la 24 ore: 750 : 365 = 2,07 mg	3 mg
Femeie prezentînd cicluri menstruale	Excretă zilnic 1 mg fier. Pierde lunar 25 mg fier cu cei 50 ml sînge menstrual. Pierderi suplimentare de fier raportate la 24 h = 25 × 12 : 365 = = 0,8 mg	1,8 mg
Gravidă	Excretă zilnic 1 mg fier. Nu pierde fier prin menstruaţie. Necesită însă un surplus de aproximativ 2,7 mg zilnic	3,7 mg
Femeie care alăptează fără a prezenta cicluri menstruale	Excretă zilnic 1 mg fier. Nu pierde fier prin menstruaţie. Necesită însă un surplus de 0,8 mg fier/24 ore pentru lactaţie	1,8 mg
Femeie cere alăptează şi prezintă menstruaţie	Excretă zilnic 1 mg fier. Pierderi menstruale de fier raportate la 24 h = 0,8 mg. Necesităţi impuse de lactaţie 0,8 mg/24 h	2,6 mg
Copil de 12 kg	Excretă zilnic 0,2 mg fier. Necesită însă un surplus zilnic de 1 mg fier pentru creştere.	1,2 mg
Băiat la pubertate	Excretă zilnic 1 mg fier. Necesită un surplus zilnic de 1 mg fier pentru creştere şi formarea depozitelor de fier	2 mg
Fetiţă la pubertate (după apariţia menstruaţiei)	Excretă zilnic 1 mg fier. Pierderi de fier menstruale raportate la 24 h = 0,8 mg. Necesităţile suplimentare impuse de creştere 1 mg/24 h	2,8 mg

Amenoreea din cursul sarcinii duce la economisirea de aproximativ 200 mg fier. Cu toate acestea, nevoile de fier ale gravidei sînt mult crescute în special în ultimele luni de sarcină. S-a calculat că formarea masei corporale și a masei sanguine a fătului necesită aproximativ 400 mg fier, iar mărirea uterului și creșterea volumului sanguin al gravidei implică un surplus de alte 500 mg fier. Luîndu-se în considerare și eventualele pierderi de sînge care survin în cursul nașterii, nevoile de fier din ultimele luni de graviditate ajung la aproape de patru ori necesitățile bărbatului adult. Nu trebuie uitat nici faptul că donatorii de sînge pierd aproximativ 125 mg fier cu fiecare 250 ml sînge donat.

Ținîndu-se cont de absorbția parțială a fierului alimentar dar și de creșterea absorbției în caz de necesități sporite, se recomandă ca aportul de fier din rația alimentară să fie de cîteva ori mai ridicat decît necesitățile calculate în funcție de pierderi și arătate în tabelul 8–3. Astfel, în timp ce pentru bărbatul adult și pentru femeia trecută de menopauză sînt suficiente 10 mg fier alimentar, în rația zilnică, la băieții și fetele de 12–18 ani, precum și la femeile între 18–55 ani, rația alimentară zilnică va conține 18 mg fier (9, 12, 25).

Metode de explorare a metabolismului fierului

Alături de determinarea concentrației fierului seric (sideremia) și a capacității totale de fixare a fierului (CTFF), efectuate în majoritatea laboratoarelor clinice, s-au elaborat și metode de încărcare cu fier, care apreciază capacitatea de absorbție intestinală a fierului și de preluare a fierului plasmatic de către țesuturi. Metodele bazate pe administrarea orală de fier (1 g sulfat feros) sau pe injectarea intravenoasă (20 mg zaharat oxid de fier), urmate de dozarea fierului plasmatic la diverse intervale de timp, sînt astăzi depășite de către tehnicile care folosesc fier radioactiv. Aceste tehnici simple și precise permit o apreciere dinamică a metabolismului fierului (ferocinetică), identifică organele în care are loc acumularea fierului radioactiv injectat, apreciază gradul de încorporare al acestuia în hemoglobină, precum și durata de viață a eritrocitelor (6, 24). Așa de exemplu, în *probele de depurare a fierului plasmatic* (clearance plasmatic al fierului), se injectează intravenos o doză de ^{59}Fe (eventual fixat în prealabil pe transferină prin incubarea „in vitro" cu ser autolog) și se măsoară radioactivitatea plasmei la intervale de 15 minute. După cum se vede în fig. 8–4, din panta de scădere a radioactivității se poate calcula intensitatea transportului plasmatic al fierului (turnover) și care este, în mod normal, de 30–37,5 mg/zi. Admițînd o concentrație a fierului plasmatic de 100 µg/100 ml și un volum plasmatic de 3 litri, rezultă că cele 3 mg de fier conținute în plasmă se reînnoiesc zilnic de cel puțin 10 ori.

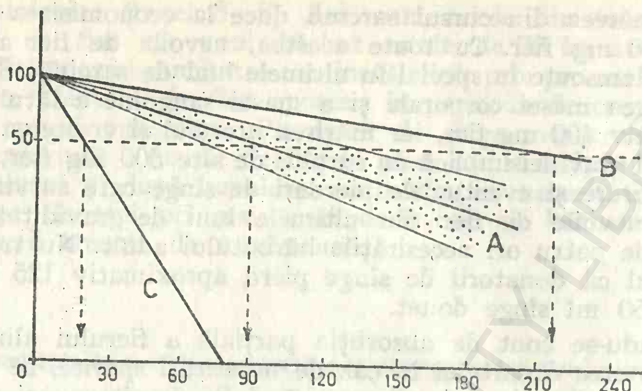


Fig. 8—4. Clearance plasmatic al fierului radioactiv (^{59}Fe). Din panta de scădere a radioactivităţii, reprezentată pe hîrtie semilogaritmică, se poate calcula timpul de înjumătăţire în plasmă a fierului injectat (T/2). Pe abscisă: timpul de la injectarea dozei de ^{59}Fe (în minute) Pe ordonată: procentul de ^{59}Fe rămas în plasmă (exprimare logaritmică).

A. Subiect normal. Aria punctată indică limitele normalităţii (T/2 în medie 90 min). B. Clearance încetinit (T/2 prelungit la 215 min); aspect întîlnit în hemocromatoză şi anemiile aplastice, denotînd o perturbare a captării fierului plasmatic. C. Clearance accelerat (T/2 = 17 min), denotînd o captare rapidă a fierului în măduva osoasă; aspect întîlnit în anemia feriprivă, anemia posthemoragică, unele anemii hemolitice hiperregenerative, dar şi în stări infecţioase, neoplazii, anemii sideroacrestice şi megaloblastice.

Din măsurarea zilnică a *radioactivităţii de suprafaţă* (dozări externe), la nivelul măduvei osoase (sacru) şi respectiv a ariei hepatice şi splenice, se poate deduce organul la nivelul căruia are loc o acumulare preferenţială a fierului radioactiv injectat, precum şi viteza cu care fierul părăseşte organul respectiv. În cazul măsurătorilor efectuate la nivelul osului sacrat, scăderea radioactivităţii corespunde cu lansarea în circulaţie a hematiilor, conţinînd fierul radioactiv încorporat în hemoglobină (vezi fig. 8—5).

Determinarea *încorporării fierului radioactiv în hemoglobină* se face în continuarea probelor de clearance, recoltîndu-se probe de sînge zilnic, timp de 15 zile, şi măsurîndu-se radioactivitatea în hematii. În funcţie de volumul sanguin şi de hematocrit se poate calcula procentajul de fier radioactiv încorporat în hemoglobina eritrocitelor din sîngele circulant (vezi fig. 8—6).

Determinările moderne, cu tehnici izotopice, nu scad cu nimic valoarea examinărilor simple, cum ar fi numărătoarea hematiilor şi măsurarea hemoglobinei, examenul frotiului de sînge periferic pentru evidenţierea aspectului hematiilor (microcitoză şi hipocromie în carenţa de fier, macrocitoză în carenţa de vitamină B_{12} şi acid folic) şi examenul frotiurilor de măduvă osoasă (hipoplazie sau dimpotrivă măduvă hiperregenerativă). Evidenţierea unui exces de granulaţii de hemosiderină, la nivelul celulelor tinere ale seriei eritrocitare din măduvă, cu ajutorul reacţiei la fericianură de potasiu (reacţia albastru de Prusia), sugerează un defect de încorporare a fierului în hemoglobină sau o anemie hemolitică, iar lipsa acestor granulaţii atrage atenţia asupra carenţei de fier.

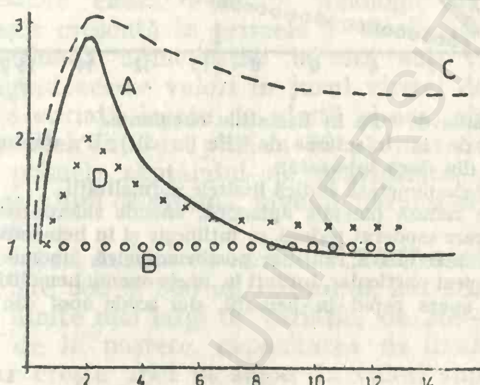


Fig. 8—5. Variaţia radioactivităţii de suprafaţă la nivelul sacrului (măsurare externă) Pe abscisă: timpul (t) în zile de la injectarea intravenoasă de ^{59}Fe; pe ordonată: radioactivitatea acumulată la nivelul măduvei osoase exprimată prin raportul între:

$$\frac{\text{impulsuri/minut la timpul } t}{\text{impulsuri/minut la } t_0};$$

La timpul t_0 (adică imediat după injectarea de ^{59}Fe), radioactivitatea organului este dată de radioizotopul din sîngele circulant. Un raport $\frac{\text{impuls/minut la 10 zile}}{\text{impuls/minut la } t_0} = 1$ înseamnă că la 10 zile de la injectarea dozei de ^{59}Fe, radioactivitatea măduvei este practic cauzată doar de sîngele care o irigă. Cu alte cuvinte, la nivelul organului eritropoietic nu se mai găseşte acumulat fier radioactiv.

A. Aspect normal. Captare rapidă a radioactivităţii, urmată de golirea măduvei prin lansarea în circulaţie a hematiilor conţinînd ^{59}Fe încorporat în hemoglobină. B. Lipsă de acumulare a fierului radioactiv în măduvă din cauza aplaziei medulare. C. Captarea rapidă la nivelul măduvei nu este urmată de o golire a acesteia, fie din cauza unui deficit de încorporare a fierului în hemoglobină (anemii sideroacrestice), fie din cauza perturbării procesului de maturare şi lansare în circulaţie a hematiilor (anemii megaloblastice). D. În hemocromatoză, o cantitate mai redusă de ^{59}Fe este captată în măduvă, iar un procent ridicat al radioactivităţii se acumulează la nivelul ficatului.

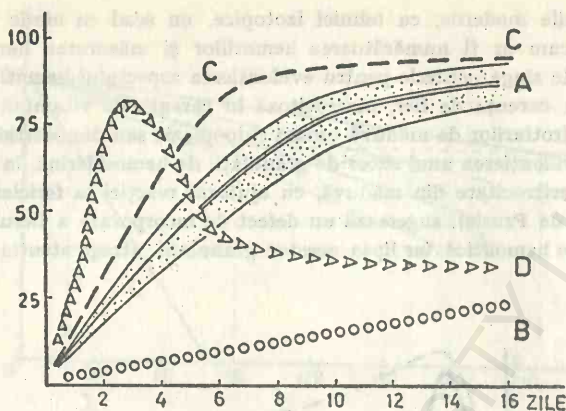


Fig. 8–6. Încorporarea de ^{59}Fe în hematiile circulante.
Pe abscisă, timpul de la injectarea de ^{59}Fe (în zile); Pe ordonată: ^{59}Fe încorporat în hematii (procent din doza injectată).
A. Subiect normal. Aria punctată indică limitele normalității.
B. Încorporare mult redusă (anemie aplastică, anemie sideroacrestică, anemie de tip Biermer); o încorporare moderat redusă se întîlnește și în hemocromatoză. C. Încorporare accelerată (anemie feriprivă, anemie posthemoragică, anemie Biermer tratată cu vitamina B_{12}). D. Aspect particular, întîlnit în unele anemii hemolitice hiperregenerative. Radioactivitatea apare rapid în hematii, dar scade apoi din cauza hemolizei.

Aprecierea depozitelor de fier la nivelul altor diverse țesuturi (ficat, piele, ganglioni limfatici) este de o utilitate mai redusă, contribuind însă la diagnosticul hemocromatozelor.

ANOMALII ALE METABOLISMULUI FIERULUI

Deși cauzate de mecanisme complexe, anomaliile în metabolismul fierului pot fi împărțite în două mari categorii: anomalii evoluînd cu un deficit de fier și anomalii evoluînd cu acumulare de fier. Alături de aceste categorii se pot întîlni și situații în care rezervele de fier din organism sînt normale sau chiar crescute, dar în care utilizarea fierului, respectiv încorporarea lui în hemoglobină este deficitară. De cele mai multe ori, deficitul de fier evoluează cu o scădere a sideremiei, iar supraîncărcarea cu fier a organismului

se însoţeşte de o creştere a fierului plasmatic. Din acest motiv este importantă o trecere în revistă a factorilor fiziologici şi patologici care afectează nivelul fierului plasmatic.

Variaţii fiziologice ale sideremiei

Deşi s-au semnalat nivele ale sideremiei de pînă la 170 µg/100 ml, la subiecţi clinic sănătoşi, valorile concentraţiei fierului seric întîlnite la majoritatea bărbaţilor normali oscilează între 90—140 µg/100 ml, fiind în medie mai scăzute, cu aproximativ 10 µg, la femei (80—130 µg/100 ml). Din cauza icterului fiziologic al nou-născutului, sideremia este uşor crescută în primele 5—8 zile de la naştere, scăzînd apoi în perioada alimentaţiei lactate sub valorile medii ale adultului şi atingînd aceste valori în jurul vîrstei de 6 ani (26, 32). Alături de aceste variaţii legate de vîrstă şi sex, sideremia prezintă oscilaţii în cursul zilei, fiind cu pînă la 30 µg mai ridicată dimineaţa decît seara. În primele săptămîni de graviditate, sideremia creşte uşor, dar în ultimele luni de sarcină, nivelul fierului seric este semnificativ mai scăzut.

Capacitatea totală de fixare a fierului (CTFF) oscilează la majoritatea adulţilor între 300 şi 360 µg/100 ml (9, 25) admiţîndu-se, după unii autori (26), limite mai largi de variaţie, de 260—420 µg/100 ml. În primele zile de la naştere, capacitatea de fixare a fierului este mai scăzută, dar creşte apoi la sugar la valori superioare celor întîlnite la adult. De notat că procentul de saturare al transferinei este de abia 20—25% la sugar faţă de o saturare de 30—40% întîlnită, de regulă, la adult (32). La gravidele aflate după a 28-a săptămînă de sarcină, scăderea fierului seric se însoţeşte de o creştere a CTFF, în timp ce la femeile care folosesc anticoncepţionale orale de natură steroidică se constată o creştere moderată a sideremiei, concomitent cu o creştere a CTFF (25). Reamintim că CTFF reprezintă o măsură a concentraţiei de transferină din plasma sîngelui circulant (vezi pag. 81—82).

Variaţii patologice ale sideremiei

Sideremia scade în anemiile feriprive şi în general în carenţa de fier, întîlnindu-se adeseori valori sub 50 µg/100 ml. Scăderea fierului seric se mai constată şi în caz de activare bruscă a eritropoiezei, cînd fierul din plasmă este rapid încorporat în hemoglobină. O astfel de situaţie survine după hemoragii sau în cursul tratamentu-

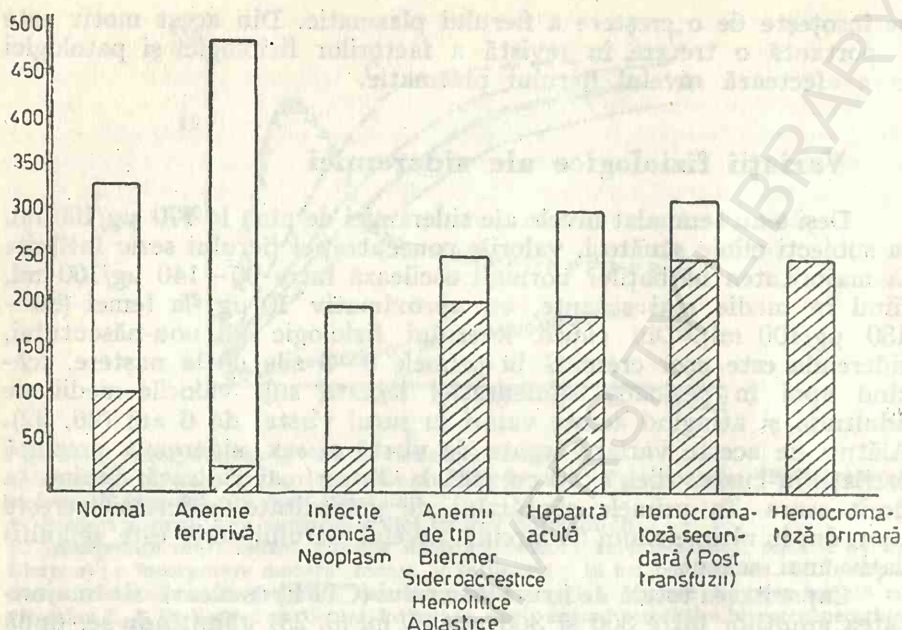


Fig. 8—7. Comportarea sideremiei (porțiunea hașurată a coloanelor), capacității latente de fixare a fierului (porțiunea albă a coloanelor) și a capacității totale de fixare a fierului (coloanele în întregime) în cîteva anomalii mai caracteristice ale metabolismului fierului. Pe ordonată: μg fier/100 ml ser.

lui cu vitamina B_{12} a unei anemii de tip Biermer. De regulă, hiposideremia, întîlnită în cursul unei carențe de fier, se însoțește de o creștere a CTFF (adeseori peste 450 μg/100 ml) astfel încît capacitatea latentă de fixare prezintă valori ridicate, iar procentul de saturare al transferinei scade la 5—10%. Pe de altă parte, deficitul sever de transferină (vezi pag. 97) se însoțește de o scădere exprimată a sideremiei (12).

Valori scăzute ale fierului seric, și eventual anemie, se pot întîlni și în stări infecțioase mai ales cronice, în nefropatii cronice, poliartrita cronică evolutivă și în procese neoplazice. În aceste situații, în care fierul pare a fi reținut în sistemul reticulo-endotelial, hiposideremia se însoțește de o scădere a transferinei (respectiv a CTFF), rezervele de fier ale organismului sînt normale sau chiar crescute, iar anemia nu răspunde la tratamentul cu fier (12).

Creșterea sideremiei survine atunci cînd măduva osoasă, principalul consumator de fier, nu mai poate capta și utiliza fierul plas-

Tabel 8–4

Comportarea probelor de laborator și a ferocineticii în cîteva anomalii ale metabolismului fierului

Starea patologică	Sideremia	Capacitatea totală de fixare a fierului	Clearance plasmatic al ^{59}Fe injectat intravenos	Captarea de ^{59}Fe în măduva osoasă (măsurări externe)	Incorporarea de ^{59}Fe în hematiile circulante	Granulații de hemosiderină în măduva osoasă (Normal ++)	Alte probe de laborator
Anemie feriprivă	mult scăzută	mult crescută	accelerat (T/2 scurtat)	Creștere rapidă a radioactivității (captare bună) urmată de o scădere progresivă (lansare de hematii)	intensă	0	Hipocromie Microcitoză Adeseori anaciditate
Anemie posthemoragică	moderat scăzută	ușor crescută	accelerat (T/2 scurtat)	Captare rapidă urmată de lansarea rapidă a hematiilor	foarte intensă	+	Reticulocitoză exprimată
Anemii din infecții cronice sau neoplasm	scăzută	scăzută	accelerat (T/2 scurtat)	Captare aproape normală, lansare întîrziată	moderat scăzută	+++	Probe de laborator pentru boala de bază
Anemii aplastice	crescută	ușor scăzută	întîrziat (T/2 prelungit)	captare redusă	lipsă de incorporare	+++	În măduva scad elementele tinere din seria roșie
Anemii sideroacrestice (AS) și Anemii de tip Biermer(AB)	crescută	ușor scăzută	accelerat (T/2 scurtat)	captare rapidă lansare mult întîrziată	incorporare mult redusă	++++ (AS) +++(AB)	peste 70% sideroblaști în măduvă (AS) megaloblastoză, aclorhidrie histamino-rezistentă (AB)
Deficit de transferină	foarte mult scăzută	extrem de scăzută	extrem de accelerat (T/2 aprox. 5 min)	deficit de captare	incorporare mult redusă	0	Lipsa transferinei la imunelectroforeză
Hemocromatoză primară	mult crescută	scăzută (saturarea transferinei de peste 80%)	întîrziat	ușor redusă	ușor redusă	++++	Alterarea probelor hepatice, apariția diabetului bronzat

matic. O astfel de situaţie se întîlneşte în mod cert în anemiile aplastice. Ipoteza după care un mecanism similar ar sta la baza hipersideremiei, care însoţeşte eritropoieza ineficientă din anemiile megaloblastice (de tip Biermer) sau din anemiile sideroacrestice (vezi pag. 102), apărea pe deplin logică. În realitate, atît în anemiile megaloblastice cît şi în cele sideroacrestice, procesul de captare a fierului plasmatic la nivelul măduvei osoase este accelerat (vezi fig. 8—4 şi 8—5), iar creşterea sideremiei se datoreşte mai ales unei hemolize intramedulare (25). Dealtfel, sideremia creşte în toate situaţiile în care degradarea eritrocitelor şi eliberarea de fier din hemoglobină decurge mai rapid decît procesul de captare a fierului în măduva osoasă, fenomen caracteristic anemiilor hemolitice.

Creşterea fierului seric în hepatitele acute şi în puseele evolutive ale unor hepatite cronice pare a se datori unei eliberări de feritină din celulele hepatice lezate şi are o semnificaţie analoagă creşterii transaminazelor.

De regulă, creşterea sideremiei se însoţeşte de o acumulare de fier în depozite, iar CTFF scade uşor. Valori deosebit de crescute ale sideremiei, asociate cu o scădere marcată a transferinei, care este aproape complet saturată, se constată în hemocromatozele primare (vezi pag. 100).

Variaţiile patologice ale sideremiei şi a CTFF sînt redate în mod schematic în fig. 8—7 şi tabelul 8—4.

Carenţa de fier

Deficitul de fier apare ori de cîte ori aportul sau absorbţia nu fac faţă necesităţilor organismului. O astfel de situaţie survine mai rar din cauza unei diete inadecvate (regim făinos-lactat) şi mai des din cauza unei absorbţii deficitare (rezecţii întinse de stomac sau de intestin, sindrom de ansă oarbă, diarei, sindrom de malabsorbţie). Deşi la multe persoane cu aclorhidrie nu se dezvoltă un deficit de fier, lipsa acidului clorhidric constituie un factor predispozant pentru tulburările de absorbţie. Pierderile de fier, cauzate de hemoragii, contribuie la instalarea carenţei de fier mai ales atunci cînd mecanismele compensatorii sînt ineficiente. Aceste mecanisme implică o creştere a procentului de fier alimentar absorbit (ineficient în malabsorbţie) şi o creştere a sintezei de transferină. Creşterea concentraţiei transferinei facilitează fixarea fierului pe această proteină la nivelul mucoasei intestinale, favorizează mobilizarea fierului din depozite şi asigură transportul spre măduva osoasă. Întrucît, cedarea

fierului de pe transferină are loc în mod preferențial către elementele tinere ale seriei roșii, carența de fier va afecta abia mai tîrziu sinteza de hemoglobină, repercutîndu-se, în primul rînd, asupra depozitelor de fier și a fierului din mioglobină și heminele celulare. În acest fel, în stadiile inițiale ale carenței de fier, se poate ajunge la o boală asiderotică, fără anemie, în care manifestările clinice de astenie și fatigabilitate, precum și friabilitatea părului și a unghiilor, s-ar putea explica printr-o reducere a heminelor celulare (12, 22, 28). Cu timpul, deficitul de fier duce la instalarea anemiei cu caracter hipocrom microcitar. Persistența îndelungată a unui deficit de fier are drept urmare o atrofie a mucoasei linguale, faringiene și esofagiene, care determină „disfagia sideropenică" (sau sindromul Plummer-Vinson). Afectarea mucoasei gastrice duce la aclorhidrie, care cedează după tratamentul cu fier (31). Studii cu ^{59}Fe evidențiază o depurare accelerată a fierului plasmatic marcat (T/2 adeseori sub 50 minute), o captare rapidă a fierului în măduva osoasă și o încorporare accelerată a radioactivității în eritrocitele sîngelui circulant.

Deficitul de fier este unica situație în care este indicată *terapia cu fier*. Chiar și în aceste cazuri se va prefera administrarea per os (aproximativ 1 g sulfat feros, în doze fracționate de 0,2 g), întrucît administrarea parenterală poate duce la supraîncărcare. Administrarea parenterală este indicată doar atunci cînd există în mod cert fenomene de malabsorbție. Terapia cu fier este contraindicată în alte forme de anemii, în care rezervele de fier sînt crescute, iar absorbția de fier este accelerată. Eficiența tratamentului cu fier în anemiile feriprive este dovedită prin creșterea numărului de reticulocite după aproximativ 5—6 zile de la debut.

Deficitul de transferină

Transferina serică poate fi evaluată prin metode imunochimice sau, mai simplu, prin determinarea capacității totale de fixare a fierului (CTFF). Întrucît, transferina constituie aproximativ 45% din totalul betaglobulinelor serice, o scădere marcată a acestora poate atrage atenția asupra unui deficit în proteina fixatoare de fier.

Așa cum s-a arătat anterior, transferina este moderat scăzută în supraîncărcarea cu fier, precum și în infecții cronice, poliartrita cronică evolutivă și procese neoplazice. Întrucît transferina este sintetizată în ficat, nivelul său va scădea în insuficiențele hepatice,

iar pierderile urinare de transferină în proteinuriile masive explică scăderea CTFF în sindromul nefrotic.

Scăderi extrem de accentuate ale transferinei, cu implicaţii severe asupra metabolismului fierului, au fost descrise abia în ultimele decenii, iar după cunoştinţele noastre doar în cîteva cazuri. În cazul comunicat de Riegel şi Thomas, în 1956 (27), era vorba de o femeie de 85 de ani cu o anemie hipocromă extrem de accentuată, care fusese menţinută în viaţă, în ultimii trei ani, graţie a numeroase transfuzii de sînge şi la care, cu două zile înainte de deces, s-a evidenţiat un nivel extrem de scăzut al betaglobulinelor la electroforeza pe hîrtie.

Bolnavul descris de Hitzig şi colab., în 1960 (13), era un copil de 2 ani şi 9 luni suferind de eritroleucemie. Cu o lună înainte de deces, imunoelectroforeza evidenţia prezenţa unei linii de precipitare caracteristică pentru transferină, de intensitate normală. Această linie de precipitare nu a mai putut fi evidenţiată cu patru zile înainte de deces.

Deosebit de ilustrativă este observaţia prezentată de I. Baciu şi colab., în 1960 (1). Bolnavul, în vîrstă de 21 de ani, suferind de psoriazis eritrodermic şi artropatic, prezenta o anemie hipocromă severă, atrofia exprimată a musculaturii şi caşexie (36 kg), precum şi o disfagie extrem de accentuată (sindrom Plummer-Vinson). Deşi în plin tratament cu fier, nivelul sideremiei era de abia 31 µg/100 ml. Examenul electroforetic evidenţiază o disproteinemie accentuată, cu creşterea alfa$_2$ şi gamaglobulinelor şi o scădere extrem de marcată a betaglobulinelor, iar la imunoelectroforeză se constată lipsa liniei de precipitare corespunzătoare transferinei. Cazul a fost interpretat ca o perturbare gravă a metabolismului fierului cauzată de un deficit de transferină, aplicîndu-i-se, în consecinţă, un tratament substitutiv cu plasmă proaspătă normală ca sursă de transferină, saturată „in vitro" cu fier. În urma acestei terapii, se constată o ameliorare spectaculară. Paralel cu creşterea hematiilor şi a hemoglobinei, jena la deglutiţie cedează, iar bolnavul care, înainte era caşectic şi incapabil de mişcări active, cîştigă în greutate şi forţă fizică şi părăseşte spitalul. Examinările efectuate ulterior la părinţii şi fraţii bolnavului nu au evidenţiat vreo anomalie a proteinelor plasmatice sau a metabolismului fierului (2). Spre deosebire de primele două cazuri, în observaţia descrisă de I. Baciu şi colab., diagnosticul s-a stabilit în timp util, iar terapia substitutivă s-a dovedit eficace şi totodată demonstrativă pentru rolul transferinei. Complexitatea manifestărilor clinice constatate sugerează că transferina intervine nu numai în favorizarea sintezei de hemoglobină dar şi în procesele de încorporare a fierului în mioglobină şi în heminele celulare.

În opoziţie cu cazurile amintite, în care era vorba de un deficit sever dar cîştigat de transferină, observaţia publicată de Heilmeyer şi colab., în 1961 (11), dovedeşte posibilitatea existenţei unui deficit de transferină cu caracter ereditar. Fetiţa, în vîrstă de 7 ani, prezenta o anemie hipocromă severă, decelabilă încă de la vîrsta de 3 luni. Întrucît terapia cu fier, vitamina B_{12} şi corticoizi fusese ineficace, pacienta a fost menţinută în viaţă prin transfuzii repetate de sînge. Nivelul fierului seric oscila între 9—14 µg/100 ml, iar CTFF era de abia 33 µg/100 ml; fixarea fierului avînd loc, probabil, la nivelul altor fracţiuni proteice ale plasmei. Ferocinetica evidenţia un clearance extrem de accelerat (T/2, de 5 minute), întrucît fierul, nefixat pe transferină, difuza rapid şi anarhic în ţesuturi, pierzîndu-se totodată prin filtrul renal. Caracterul familial, mai probabil autosomal recesiv, era atestat de faptul că, la ambii părinţi, nivelul transferinemiei era de aproximativ jumătate din valorile normale.

Supraîncărcarea cu fier. Hemosideroza şi hemocromatoza

Avîndu-se în vedere că, cel puţin la bărbat, eliminările de fier sînt foarte reduse, orice creştere a aportului de fier poate duce la un bilanţ pozitiv şi la o supraîncărcare. Este de ajuns ca absorbţia intestinală sau aportul parenteral să depăşească zilnic cu 2 mg eliminările de fier, pentru ca, în decurs de 27 de ani, să se acumuleaze 20 g fier, adică de 4—5 ori cantitatea de fier conţinută în organismul unui subiect normal. Excesul de fier depăşeşte capacitatea organismului de a forma apoferitină, astfel încît acumulările de fier decurg cu formarea unui procent crescut de hemosiderină. Atît timp cît supraîncărcarea cu fier este limitată la celulele sistemului reticulo-endotelial, nu apar leziuni morfologice ale parenchimelor şi nici tulburări funcţionale. Se vorbeşte, în astfel de cazuri, de *hemosideroză*. Dacă depunerile de fier au loc şi în celulele parenchimatoase, se dezvoltă procese patologice caracteristice care alcătuiesc *hemocromatoza*. După etiopatogenia lor se pot distinge hemosideroze sau hemocromatoze secundare şi hemocromatoze primare.

Hemocromatozele secundare sînt consecutive unor factori etiologici conoscuţi. Dată fiind capacitatea mucoasei intestinale de a preveni absorbţia intempestivă de fier, este de aşteptat ca un conţinut mai bogat în fier al alimentelor să nu ducă implicit la o acumulare de fier în organism. Supraîncărcarea cu fier survine totuşi la anumite populaţii, la care conţinutul în fier al raţiei alimentare este excesiv (pînă la 100 mg/zi). O astfel de situaţie s-a descris la populaţia

Bantu din Africa de Sud, la care excesul de fier provine mai ales din băuturi alcoolice (bere) preparate în vase de fier. Leziunile hepatice care survin la unii din acești subiecți sînt cauzate nu numai de acumularea de fier dar și de alcoolism și de carența în proteine. O supraîncărcare cu fier a fost descrisă și la unele populații din Manciuria, locuind în regiuni în care conținutul în fier al alimentelor și al apei potabile este ridicat (pînă la 10 mg/litru). Acumularea de fier survine în astfel de cazuri încă din copilărie și realizează așa-numita boală Kaschin-Beck, caracterizată prin hipotrofie staturală și diformități ale articulațiilor (mai ales a celor interfalangiene). Este de notat că vinurile pot conține 5—22 mg fier la litru, fapt care ar putea contribui la supraîncărcarea cu fier, constatată în unele cazuri de ciroză alcoolică. Un alt mecanism care ar putea interveni în hemocromatoza ciroticilor ar putea fi reprezentat de anemia macrocitară, în care excesul de fier provine din procesul de hemoliză și din creșterea absorbției de fier. Dealtfel, majoritatea anemiilor hemolitice, a celor de tip Biermer sau a celor sideroacrestice, se însoțesc de o creștere a depozitelor de fier. Este de reținut și faptul că o transfuzie de 250 ml sînge furnizează aproximativ 125 mg fier, ceea ce este în măsură să explice hemosideroza bolnavilor politransfuzați (25).

Hemocromatoza primară constă într-o acumulare excesivă de fier (20—60 g fier față de 4—5 g la subiecții normali), care nu poate fi atribuită vreuneia din cauzele amintite mai sus. Supraîncărcarea cu fier interesează nu numai sistemul reticuloendotelial, dar și parenchimul hepatic, pancreasul, glandele salivare, hipofiza, glandele corticosuprarenale, testiculii, articulațiile și pielea. Consecutiv acestui proces, se dezvoltă o ciroză hepatică, insuficiență pluriglandulară, diabet zaharat și o pigmentare brună a tegumentelor (diabet bronzat). Pigmentarea pielii se datorește în primul rînd acumulării de melanină, cauzată de o insuficiență suprarenală, iar depunerile de fier contribuie la determinarea nuanței cenușii metalice. Acumularea de fier în miocard duce la o insuficiență cardiacă neinfluențată de cardiotonice și care este cauza decesului în aproximativ o treime a cazurilor de hemocromatoză (25). Toate aceste manifestări apar după vîrsta de 30 de ani și mai ales după 40 de ani, fenomen explicabil prin intervalul îndelungat de timp necesar pentru acumularea progresivă de fier. Admițînd un bilanț pozitiv al fierului de 2 mg/zi, acumularea de 20 g fier (5 × normalul) ar necesita aproximativ 27 de ani. Întrucît, femeile pierd în cursul vieții lor aproximativ 16—30 g fier, ca rezultat al menstruațiilor și al sarcinilor, este ușor de înțeles de ce hemocromatoza este de 10—20 de ori mai rară la sexul f minin, iar la cele cîteva cazuri de femei suferind de hemocromatoză s-au semnalat antecedente de amenoree sau oligohipomenoree.

Diagnosticul hemocromatozei se face mai ales prin probe de laborator. Caracteristică este creşterea exprimată a sideremiei (adeseori peste 220 μg/100 ml) asociată cu o scădere a capacităţii totale de fixare a fierului, astfel încît, procentajul de saturare al transferinei este de peste 70% şi, uneori, chiar de 100% (vezi fig. 8—7). La puncţia-biopsie hepatică se constată mari cantităţi de hemosiderină, localizată mai ales în hepatocite, iar biopsia pielii poate contribui la confirmarea diagnosticului. Uu alt test util constă în depistarea hemosiderinei în celulele tubilor renali din sedimentul urinar. De asemenea, administrarea unei perfuzii lente intravenoase de desferioxamină (Desferral), un agent chelator, în doză de 8—10 mg/kg greutate, produce o eliminare marcată de fier în urina bolnavilor cu hemocromatoză, în timp ce, la normali, creşterea eliminărilor urinare este minimă.

Studiile cu fier marcat, injectat intravenos, demonstrează un clearance mult încetinit al fierului plasmatic (T/2 > 180 minute) o scădere moderată a încorporării fierului în hemoglobină şi o creştere marcată a radioactivităţii la nivelul ficatului.

Deşi există numeroase observaţii care sugerează caracterul familial al acestei boli, nu s-au putut încă preciza nici modul de transmitere şi nici esenţa defectului metabolic. Faptul că boala survine şi la femei (deşi cu mult mai rar), exclude un defect genetic legat de sex (respectiv de cromozomul X). Cercetări cu fier marcat, administrat per os, sugerează că aceşti bolnavi absorb un procent mai mare din fierul alimentar, dar nu s-au putut preciza cauza şi mecanismul intim al acestei absorbţii crescute. S-a sugerat că, la astfel de bolnavi, o mai mică cantitate din fierul alimentar se fixează sub formă de feritină la nivelul mucoasei intestinale, cea mai mare parte a metalului fiind captată de o proteină transportoare, în concentraţie anormal crescută, din mucoasa intestinală, care îi asigură un transport accelerat prin celulele intestinale şi o trecere rapidă în plasmă. Pe de altă parte, s-ar părea că în hemocromatoză, fierul plasmatic este reţinut cu precădere de alte ţesuturi decît măduva osoasă, iar acest fenomen poate fi doar parţial explicat de gradul înalt de saturare al transferinei. Încercarea de a explica acumularea hepatică de fier printr-un defect al xantinoxidazei este încă insuficient demonstrată. În consecinţă, tratamentul hemocromatozei se bazează pe măsuri paleative, încercîndu-se o îndepărtare a excesului de fier prin sîngerări repetate şi prin administrarea de desferioxamină (25).

Anomalii ale metabolismului fierului în anemii

Cu excepţia anemiilor feriprive şi a celor posthemoragice, majoritatea sindroamelor anemice evoluează cu hipersideremie şi creşterea depozitelor de fier. Aşa, de exemplu, în anemiile aplastice, lipsa elementelor tinere din seria roşie face ca fierul plasmatic să nu fie captat în măduvă. În consecinţă, alături de un clearance prelungit al fierului radioactiv injectat (vezi fig. 8—4), se va întîlni o reducere a radioactivităţii de suprafaţă la nivelul sacrului (vezi fig. 8—5) şi o lipsă de încorporare a radioactivităţii în eritrocite (vezi fig. 8—6).

În anemiile hipercrome megaloblastice (de tip Biermer), măduva este hiperplazică, iar anemia este datorată anomaliilor de maturaţie şi lansare a eritrocitelor de dimensiuni anormal crescute (megalocite), din care o bună parte suferă un proces de hemoliză intramedulară (31). În consecinţă, deşi fierul este captat rapid în măduva osoasă încorporarea radioactivităţii în eritrocitele circulante întîrzie. O situaţie similară se întîlneşte în anemiile sideroacrestice. În aceste anemii cu caracter hipocrom, cauzate de factori etiologici diverşi şi încă puţin precizaţi (defect cu caracter genetic, deficit de vitamina B_6, factori toxici, factori imunologici, procese neoplazice) se perturbă procesul de formare a hemului, respectiv cuplarea fierului cu protoporfirina şi cu globina (10, 12). În consecinţă, deşi măduva osoasă este plină de elemente tinere, formarea de hemoglobină este blocată, iar fierul rămîne cantonat în granulele de hemosiderină, care pot fi evidenţiate în normoblaşti prin coloraţia cu fericianură de potasiu. Astfel de normoblaşti conţinînd granulaţii de hemosiderină (sideroblaşti) pot ajunge pînă la 70% din elementele nucleate ale măduvei. Fierul radioactiv, injectat intravenos, este rapid captat la nivelul măduvei, unde radioactivitatea persistă timp îndelungat, iar tendinţa de încorporare în hematiile circulante este abia schiţată. Ca şi în cazul anemiilor de tip Biermer, hematopoieza ineficientă din anemiile sideroacrestice se însoţeşte de o hemoliză intramedulară, iar creşterea sideremiei este în bună parte o consecinţă a acestei hemolize. În alte forme de anemii, evoluînd cu hipersideremie, hemoliza are loc după lansarea în sîngele periferic. Aceste anemii hemolitice, cu caracter hiperregenerativ, se caracterizează printr-o încorporare rapidă a fierului în hematiile din sîngele circulant, care însă au o durată de viaţă scăzută (vezi fig. 8—6). În tabelul 8—4 sînt prezentate în mod succint particularităţile metabolismului fierului în diverse condiţii patologice.

METABOLISMUL NORMAL ŞI PATOLOGIC AL CUPRULUI

Determinările de cupru seric au o valoare diagnostică redusă iar rolul fiziologic al acestui element este încă puţin elucidat. Dat fiind însă că animalele, supuse la o dietă carenţată în cupru, slăbesc progresiv şi mor, este evident că acest metal este absolut necesar pentru buna funcţionare a organismului.

Distribuţia şi funcţiile cuprului în organism

Din cele 100—150 mg de cupru conţinute în organismul unui adult, mai bine de jumătate se găseşte în muşchi şi în oase, fără ca acestor fracţiuni să li se poată atribui o semnificaţie funcţională certă. Restul cuprului este localizat în special în ficat, rinichi, sistemul nervos central şi hematii. Cea mai mare concentraţie de cupru a fost găsită la nivelul formaţiunii denumită „locus ceruleus" din trunchiul cerebral. Ţesutul hepatic este de asemenea destul de bogat în cupru, iar ficatul fetal are un conţinut de 10 ori mai mare în acest element decît ficatul adultului. Recent s-a reuşit izolarea din ţesuturi a unor proteine conţinînd cupru, aşa cum sînt *eritrocupreina*, din hematii, *hepatocupreina*, din ficat, şi mai multe fracţiuni de *cerebrocupreină*, din creier, dar semnificaţia acestor cuproproteine este încă incertă. Mai semnificativ este faptul că o serie de enzime, cum ar fi citocromoxidaza, catalaza, tirozinaza, monoaminoxidaza, oxidaza acidului ascorbic şi uricaza, conţin în structura lor cupru sau necesită acest metal pentru a-şi desfăşura activitatea catalitică (9, 28).

Din cele 80—130 μg cupru conţinute în 100 ml plasmă, mai bine de 96% se găsesc încorporate în *ceruloplasmină*, o alfa$_2$ globulină, cu greutatea moleculară de 165.000. Fiecare moleculă de ceruloplasmină conţine 8 atomi de cupru, conţinutul procentual în acest metal al ceruloplasminei fiind de aproximativ 0,32—0,34%. Pe baza acestor date, se poate deduce că cele 36 mg ceruloplasmină, conţinute în mod nomal în 100 ml plasmă, încorporează aproximativ 0,115 mg cupru (115 μg). În ultimii ani, s-a reuşit separarea mai multor subfracţiuni de ceruloplasmină, dintre care cea produsă de ficat constituie aproximativ 80%. Nu s-a precizat însă provenienţa şi semnificaţia celorlalte subfracţiuni (33). Spre deosebire de transferină, care este un adevărat transportor de fier, cerulopasmina nu cedează ţesuturilor cuprul, ci îl menţine încorporat în structura ei, exercitînd o activitate feroxidazică şi favorizînd încărcarea fierului pe transferină (vezi pag. 85). În plus ceruloplasmina exercită efecte oxidazice asupra unor polifenoli şi amine, inclusiv asupra adrenalinei şi serotoninei. Transportul plasmatic al cuprului spre ţesuturi este asigurat de cele aproximativ patru procente din cuprul plasmatic neincorporat în ceruloplasmină şi fixat în mod labil pe albumina serică (28).

Circuitul cuprului în organism

Cele 2,5—5 mg cupru, conţinute în raţia alimentară zilnică, acoperă pe deplin nevoile adultului, care sînt de aproximativ 34 µg/kg greutate corporală/24 ore. Sugarul şi preşcolarul necesită cantităţi cu ceva mai mari, de aproximativ 50 µg/kg/24 ore. Întrucît, laptele de vacă este foarte sărac în cupru, o alimentaţie bazată exclusiv pe acest aliment ar putea duce la o carenţă în cupru. În schimb, alimente cum sînt nucile, ficatul şi ciocolata au un conţinut în cupru deosebit de ridicat (9, 28).

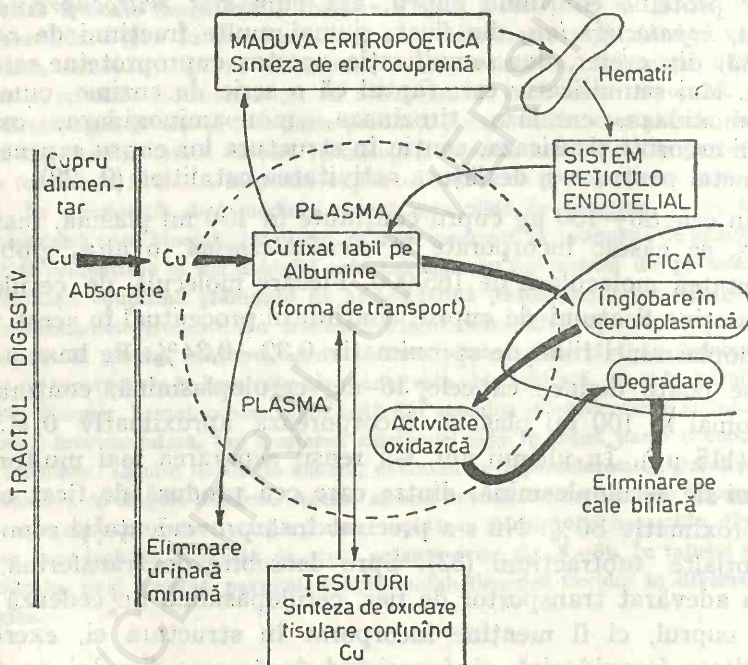


Fig. 8—8. **Reprezentare schematică a circuitului cuprului în organism. Se poate observa că, spre deosebire de fier, circuitul cuprului nu decurge într-un sistem închis. Din figură reiese că direcţia principală a transportului de cupru este spre ficat, pentru sinteza de ceruloplasmină. Aceasta este secretată în plasmă unde îşi exercită activitatea sa oxidazică fiind apoi captată de ficat, degradată şi eliminată prin bilă. Deşi reprezintă abia 4% din cupremie, forma fixată labil pe albumine asigură transportul plasmatic de cupru spre ţesuturi, avînd un turnover rapid.**

Studii efectuate cu ajutorul cuprului radioactiv (^{64}Cu) au demonstrat o absorbţie rapidă a cuprului ingerat, care, ajuns în plasmă, se fixează labil pe albuminele serice, fiind vehiculat la ţesuturi sub această formă.

După 24 de ore de la administrarea izotopului, aproape toată radioactivitatea plasmei se regăseşte la nivelul alfa$_2$-globulinelor fiind incorporată în ceruloplasmină (3). Se poate bănui deci că, cea mai mare parte a ionilor de cupru fixaţi iniţial în mod labil pe albumine, sînt captaţi de ficat, încorporaţi în ceruloplasmina sintetizată la acest nivel şi secretaţi sub această formă în plasmă. Aşa cum s-a mai arătat, ceruloplasmina nu este un adevărat transportor de cupru, iar metalul încorporat în această proteină este scos din circuitul metabolic pînă cînd complexul este degradat în ficat şi eliminat pe cale biliară şi intestinală. S-a calculat că peste 96% din cuprul ingerat se elimină pe această cale. Eliminarea urinară reprezintă o fracţiune infimă (sub 1% din cuprul ingerat), fenomen explicabil prin fixarea cuprului pe proteine. Se cunosc încă prea puţine date privind factorii care reglează transportul cuprului şi captarea lui la nivelul unui sau altui ţesut.

Variaţii fiziologice şi patologice ale cupremiei şi ale ceruloplasminei

Cupremia oscilează la adulţii normali între 80—130 µg/100 ml. La nou-născut, valorile cuprului seric sînt mai scăzute (în medie 65 µg/100 ml), dar cresc progresiv, astfel încît la copii şi adolescenţi (5—17 ani), cupremia poate ajunge la 164 µg/100 ml (32). Peste 96% din cuprul seric se găseşte încorporat în ceruloplasmină (96 µg pentru o cupremie totală de 100 µg/100 ml) şi abia 4% este fixat în mod labil pe albuminele serice. Această formă de transport, labil fixată, sau aşa-zisul „cupru direct reactiv" produce prompt o reacţie de culoare, atunci cînd se adaugă la ser dietilditiocarbamatul, în timp ce cuprul din ceruloplasmină nu reacţionează decît după tratarea serului cu acid clorhidric pentru desfacerea cuprului din complexul metaloproteic.

Concentraţia plasmatică a ceruloplasminei (exprimată ca proteină) este de 30—36 mg/100 ml, la adulţi, fiind în medie cu cîteva miligrame mai crescută la bărbaţi decît la femei. Valorile ceruloplasminei sînt mult mai scăzute la nou-născut (adeseori sub 15 mg/100 ml), dar cresc în cursul copilăriei şi adolescenţei paralel cu cupremia.

Nivelul ceruloplasminei (ca şi nivelul transferinei) creşte mult în ultimele luni de sarcină, putînd depăşi 50 mg/100 ml. Oestrogenii şi anticoncepţionalele orale de natură steroidică produc, de asemenea, o creştere semnificativă atît a ceruloplasminei cît şi a transferinei (3).

Creşteri patologice ale cuprului seric şi ale ceruloplasminei se întîlnesc în infecţii acute şi cronice, infarctul miocardic, leucemii acute şi procese neoplazice (18). De notat că în astfel de situaţii creşterea cupremiei şi ceruloplasminei se asociază cu scăderea transferinei şi sideremiei (vezi pag. 94). Se constată însă, un paralelism între creşterea ceruloplasminei şi creşterea unor proteine de fază acută, cum sînt fibrinogenul, proteina C-reactivă şi seromucoizii (35).

O creştere a ceruloplasminei survine şi în perturbarea eliminării sale pe cale biliară (colestază intra- sau extrahepatică). În astfel de cazuri, nivelul crescut al ceruloplasminei se asociază cu creşteri exprimate ale fosfatazei alcaline, 5-nucleotidazei, leucin-aminopeptidazei şi gamaglutamiltransferazei (vezi pag. 182). Un nivel mai ridicat al ceruloplasminei se întîlneşte şi în boala lui Basedow, dar corelarea acestei constatări cu activarea proceselor oxidative din hipertiroidism nu este încă suficient dovedită.

Scăderi patologice ale cupremiei şi ale ceruloplasminei survin în rarele cazuri de carenţă în cupru (vezi mai jos), în sindromul nefrotic, datorită pierderii pe cale urinară, în enteropatia cu pierdere de proteine şi în perturbarea gravă a sintezelor proteice, aşa cum se constată în cursul tratamentului cu L-asparaginază al leucemiilor (vol. I, pag. 28) sau în unele ciroze decompensate, survenind la tineri (4, 34). Întrucît la hepatici, nivelul ceruloplasminei este influenţat în sens contrar de factori multiplii (scăderea nivelului în perturbarea sintezelor proteice, creşterea în colestază şi procese inflamatorii), valoarea diagnostică a determinărilor de cupru şi de ceruloplasmină în afecţiunile ficatului este redusă (34). Scăderea cupremiei şi a ceruloplasminei are însă o valoare deosebită pentru diagnosticul bolii lui Wilson, care reprezintă o perturbare cu caracter genetic a metabolismului cuprului (vezi pag. 108).

Carenţa de cupru

Şobolanii şi porcii tineri, supuşi la o dietă săracă în cupru (de exemplu lapte de vacă), dezvoltă o anemie hipocromă microcitară severă şi sucombă. Anemia cu caracter feripriv şi scăderea fierului seric, constatate la astfel de animale, atrage atenţia asupra interrela-

ţiilor dintre metabolismul cuprului şi fierului. În orice caz, această anemie nu poate fi incriminată ca şi cauză a decesului, întrucît o scădere similară a hemoglobinei, cauzată de un deficit pur de fier, nu este fatală (17, 28). S-ar putea deci presupune că fenomenele grave din deficitul de cupru se datoresc unor perturbări ale sistemelor enzimatice oxidoreducătoare conţinînd cupru. Deşi la şobolanii cu carenţă severă de cupru, activitatea oxidazică a ceruloplasminei scade pînă la valori nule, metodele imunologice detectează o proteină, cu structura antigenică a ceruloplasminei, denumită apoceruloplasmină. Se poate deci presupune că în mod normal această apoceruloplasmină se combină în ficat cu cuprul, formînd ceruloplasmina activă, în timp ce la animalele carenţate, proteina se secretă necombinată cu cuprul şi deci inactivă enzimatic. În orice caz, prin administrarea de cupru animalelor carenţate se ajunge la refacerea activităţii oxidazice a ceruloplasminei (13 bis). Dezvoltarea unor anomalii ale oaselor la căţeii supuşi unui regim alimentar sărac în cupru a fost descrisă, în 1951, de către Baxter (citat de 9). Anomaliile se caracterizează prin subţierea tăbliilor şi trabeculelor osoase, asociate cu lărgirea epifizelor. Totodată, animalele deveneau anemice, iar blana capăta o culoare cenuşie. Deşi scăderi ale ceruloplasminei şi ale cupremiei pot surveni în cazuri de nefroză sau în sindromul de malabsorbţie, nu se poate vorbi de o carenţă de cupru la omul adult. La sugari însă s-a descris un sindrom caracterizat prin scăderea marcată a cupremiei şi ceruloplasminei asociată cu tulburări de absorbţie a fierului, hiposideremie, anemie microcitară hipocromă, hipoproteinemie şi edeme.

Atunci cînd carenţa de cupru este secundară unui deficit dietetic, nivelul cupremiei şi ceruloplasmina cresc după administrarea pe cale orală a sărurilor de cupru (2,5 mg sulfat de cupru/zi).

În ultimii ani, s-au descris însă şi cazuri în care scăderea cuprului din organism se datoreşte unui deficit cu caracter genetic în procesul de absorbţie digestivă a cuprului sau mai precis de o perturbare a transportului acestui metal prin celulele mucoasei intestinale. Se pare că acelaşi defect de transport există şi la nivelul placentei, fapt care explică scăderea extrem de accentuată a cuprului în ţesuturile nou-născuţilor afectaţi de această anomalie. Conţinutul de cupru al ficatului acestor copii este de-abia 19 μg/g ţesut uscat, faţă de 31 μg/g la adultul sănătos şi de peste 250 μg/g la nou-născutul normal. Anomalia mai sus amintită poartă denumirea de *boala lui Menkes* şi se transmite ca un caracter recesiv, legat de cromozomul X. Alături de scăderea cuprului seric şi hepatic, copiii afectaţi de această boală prezintă tulburări în dezvoltarea fizică şi intelectuală, crize convulsive, tendinţa la hipotermie şi o susceptibilitate deosebită la infecţii. Dealtfel, decesul survine, de regulă, înaintea vîrstei de trei ani. Recu-

noaşterea bolii lui Menkes este facilitată de aspectul particular al părului, care, la scurt timp după naştere, îşi pierde luciul, devine mai depigmentat, friabil şi răsucit, iar la palpare dă senzaţia de păr din sîrmă de oţel (kinky hair sau steely-hair syndrome).

Diagnosticul de certitudine se face prin evidenţierea scăderii cuprului hepatic şi prin demonstrarea unui deficit sever în procesul de absorbţie a cuprului radioactiv administrat pe cale orală. Diagnosticul precoce este deosebit de important, întrucît aplicarea unui tratament parenteral cu săruri de cupru încă din primele săptămîni de viaţă pare a avea efecte favorabile, prevenind instalarea leziunilor ireversibile. Aplicarea tratamentului după vîrsta de patru luni este ineficace.

Supraîncărcarea cu cupru. Boala lui Wilson

Boala lui Wilson sau degenerescenţa hepato-lenticulară reprezintă un exemplu tipic de felul în care manifestări clinice multiple şi aparent fără legătură între ele sînt cauzate, în ultimă instanţă, de un singur defect metabolic cu caracter genetic.

Manifestările clinice ale bolii lui Wilson au fost amintite anterior în legătură cu aminoaciduriile renale (vezi pag. 45 vol. I) şi în legătură cu disproteinemiile prin defect cu caracter genetic. Aceste manifestări apar la adolescenţi şi adulţi tineri, de ambele sexe, şi constau, de cele mai multe ori, din fenomene neurologice (spasticitate, rigiditate, tulburări de vorbire, tulburări de deglutiţie şi, mai rar, tremurături şi tulburări psihice) asociate cu leziuni hepatice, evoluînd progresiv spre ciroză, şi apariţia unui inel brun-verzui la periferia corneei (inelul lui Kayser-Fleischer). La aceste simptome se pot adăuga leziuni ale tubilor renali, evoluînd cu aminoacidurie, pusee de anemie hemolitică şi fracturi osoase spontane (3).

Toate aceste manifestări pot fi explicate prin depunerea excesivă de cupru în ţesuturi. Aşa, de exemplu, conţinutul în cupru al ficatului este de 5—30 de ori mai ridicat decît la adultul normal, depunerile avînd loc în special la nivelul hepatocitelor şi, doar în mică măsură, în celulele Kupfer. Supraîncărcarea cu cupru din sistemul nervos central interesează mai ales ganglionii bazali, explicîndu-se astfel predominanţa fenomenelor extrapiramidale. Inelul lui Kayser-Fleischer se datoreşte depunerilor de cupru în membrana lui Descemet, iar fenomenele renale apar ca o consecinţă a impregnării cu cupru a tubilor renali. Drept urmare a leziunilor tubulare, se produce o perturbare a retroresorbţiei acizilor aminaţi, iar, în cazuri mai avansate, o retrore-

sorbţie diminuată a glucozei, bicarbonaţilor, acidului uric, fosfaţilor şi calciului.

Investigaţiile de laborator evidenţiază, de cele mai multe ori, o scădere moderată a cupremiei (mai des sub 70 μg/100 ml) şi o scădere accentuată a ceruloplasminei (adesea sub 15 mg/100 ml). Caracteristică pentru această boală este creşterea procentuală a cuprului seric neîncorporat în ceruloplasmină (aşa-zisul „cupru direct reactiv"). Această fracţiune de transport, fixată labil pe albumine, este de 2—4% la normali şi ajunge la valori de peste 40% în boala lui Wilson (vezi fig. 8—9). De o valoare diagnostică deosebită este constatarea că, în boala lui Wilson, eliminările urinare de cupru depăşesc aproape întotdeauna valorile normale, de pînă la 0,1 mg/24 ore, şi, adeseori, ajung la 1,5 mg/24 ore. Nu toţi pacienţii, suferind de boala lui Wilson, prezintă însă aceste manifestări. Aproximativ 5% din aceşti bolnavi au valori normale ale cupremiei şi ale ceruloplasminei. În majoritatea acestor cazuri, era vorba de tineri sau copii cu insuficienţă hepatică, la care componenta colestatică a hepatopatiei perturbă eliminarea, pe cale biliară, a ceruloplasminei, mascînd astfel modificările cauzate de un eventual deficit de sinteză. În orice caz, aceste observaţii, ca şi discrepanţele între gravitatea manifestărilor clinice şi nivelul ceruloplasminei, atrag atenţia asupra faptului că deficitul de ceruloplasmină nu este în măsură să explice patogeneza bolii lui Wilson.

Studii de cinetică a cuprului efectuate cu ajutorul izotopilor radioactivi de cupru au demonstrat că, în primele minute de la administrarea de ^{64}Cu, radioactivitatea este legată de albuminele serice, atît la normali cît şi la pacienţii cu boala lui Wilson. Radioactivitatea plasmei scade apoi rapid, în urma captării cuprului în ţesuturi, iar, la persoanele normale, cea mai mare parte a izotopului se reîntoarce în plasmă după 12—24 ore, fiind, de data aceasta, încorporat în ceruloplasmină şi migrînd deci electroforetic cu alfa$_2$-globulinele. La subiecţii cu boala lui Wilson, scăderea iniţială a cuprului radioactiv injectat decurge mai lent, iar creşterea secundară a radioactivităţii, încorporată în afla$_2$-globuline, lipseşte. Diferenţe semnificative între normali şi pacienţii cu boala lui Wilson se obţin şi prin studii de cinetică a cuprului radioactiv administrat per os (vezi fig. 8—9).

Această particularitate a cineticii cuprului se constată chiar şi la acei bolnavi la care cupremia este normală şi denotă o perturbare importantă a procesului de încorporare a cuprului în ceruloplasmină (3, 29). Tot studiile cu izotopi radioactivi au arătat că, în boala lui Wilson, bilanţul pozitiv al cuprului se datoreşte atît unei absorbţii

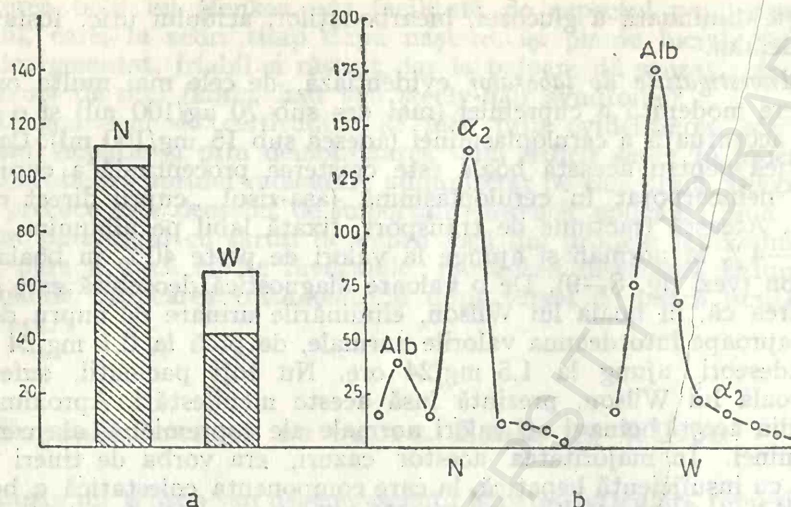


Fig. 8—9 a și b. Comportarea fracțiunilor cuprului seric la normali N și la pacienții cu boala lui Wilson (W).

a) Rezultate obținute prin determinarea chimică a cuprului seric. Coloanele reprezintă cupremia în μg/100 ml. Porțiunea hașurată a coloanelor constituie o măsură a cuprului inclus în ceruloplasmină, iar porțiunea albă indică fracțiunea legată labil de albumine (cupru direct reactiv).

b) Distribuția cuprului radioactiv în fracțiunile electroforetice ale proteinelor serice, la 12 ore după administrarea orală de ^{64}Cu. După efectuarea electroforezei se măsoară radioactivitatea în fiecare fracțiune. Pe ordonată: impulsuri/minut. După Bearn (3).

crescute cît și unei perturbări în procesul de eliminare pe cale biliară a cuprului.

Avîndu-se în vedere rolul ceruloplasminei în procesul de încărcare a fierului pe transferină (vezi fig. 8—3) ar fi de așteptat ca în boala lui Wilson cu deficit de ceruloplasmină să existe tulburări în metabolismul fierului. Astfel de tulburări nu apar însă (21), probabil datorită faptului că, în boala lui Wilson, cuprul seric și ceruloplasmina nu sînt atît de scăzute ca în deficitul experimental de cupru, iar micile cantități de ceruloplasmină din plasmă sînt în măsură să asigure procesul de feroxidare.

Defectul metabolic primar din boala lui Wilson nu este încă cunoscut, deși, așa cum s-a arătat mai sus, mecanismele de producere a simptomelor au fost în mare parte elucidate. Vechea ipoteză, după care esența bolii lui Wilson ar fi reprezentată de un defect cu caracter genetic, în procesul de sinteză al ceruloplasminei, nu poate explica

discordanțele între nivelul acestei alfa$_2$-globuline și gravitatea manifestărilor clinice. După Sass-Kortsak (28), defectul metabolic esențial ar consta într-un deficit de transport al cuprului în interiorul celulei hepatice. În consecință, cuprul s-ar acumula în hepatocite, iar sinteza de ceruloplasmină și eliminarea pe cale biliară a cuprului ar fi întîrziate. Conform acestei concepții, scăderea ceruloplasminei ar fi consecința unei perturbări a utilizării cuprului și nu cauza tezaurizării de cupru.

Caracterul genetic al bolii lui Wilson reiese din numeroase observații, iar mecanismul de transmitere pare a fi cel autosomal recesiv, boala manifestîndu-se la homozigoții care au moștenit gena patologică de la ambii părinți. Dealtfel, pacienții cu boala lui Wilson provin adeseori din căsătorii consanguine (3).

Depistarea heterozigoților care transmit defectul genetic este dificilă, întrucît doar aproximativ o cincime a acestor heterozigoți prezintă o scădere netă a ceruloplasminei. Mai frecvent, se poate constata o creștere a concentrației cuprului în țesutul hepatic al acestor subiecți (în medie 117 μg/g țesut uscat, față de 31,5 μg/g, la normali). O metodă mai elegantă de depistare a heterozigoților se bazează pe deficitul acestor subiecți în procesul de încorporare a cuprului radioactiv în ceruloplasmină. La astfel de subiecți, raportul între radioactivitatea plasmei, obținută la 48 ore de la administrarea orală de ^{64}Cu, și radioactivitatea obținută la 1—2 ore de la ingerarea izotopului radioactiv, este de-abia jumătate din valoarea raportului obținut la adulții normali (3, 29).

Tratamentul bolii lui Wilson vizează reducerea supraîncărcării cu cupru, limitîndu-se ingestia de alimente bogate în cupru și favorizîndu-se eliminarea pe cale urinară a cuprului cu ajutorul unor chelatori, cum sînt penicilamina (β-β-dimetilcisteină) sau BAL (British antilewisite, dimercaprol). Această terapie întîrzie apariția simptomelor și reduce intensitatea acestora, atunci cînd se aplică înainte de instalarea leziunilor ireversibile. Întrucît succesul terapiei depinde de precocitatea administrării, unii autori (29) indică aplicarea tratamentului chelator la toți copiii proveniți din familiile afectate de boala lui Wilson, atunci cînd acești copii prezintă o ceruloplasmină sub 20 mg/100 ml și o concentrație a cuprului hepatic de peste 100 μg/g țesut uscat.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. BACIU, I., CUCUIANU, M., PRUNDEANU, C., BOCIAT, T., *Hipobetaglobulinemie cu tulburarea transportului şi utilizării fierului*, Fiziologia, 1960, 6, 101.
2. BACIU, I., CUCUIANU, M., PRUNDEANU, C., BOCIAT, T., *Atransférrinémie transitoire chez un jeune homme*, Rev. Roum. Méd. Int., 1965, 4, 291.
3. BEARN, A. G., *Wilson's disease*, in Stanbury, J. B., Wyngaarden, J. B. and Fredrickson, D. S. (Eds), *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, ed. III, Blakiston Division Mc Graw Hill. Book Company, New York, 1972.
4. CUCUIANU, M., BORNUZ, F. and MACAVEI, I., *Effect of L-Asparaginase therapy upon serum pseudocholinesterase and ceruloplasmin levels in patients with acute leukemia*, Clinica Chimica Acta, 1972, 38, 97.
5. DOCZY, P., *Metabolismul fierului şi patogeneza anemiilor feriprive*, Med. Int., Bucureşti, 1954, 6, 37.
6. GHEORGHESCU, B., BRASLA, I., *Diagnosticul cu radioizotopi în clinică*, Ed. medicală, Bucureşti, 1964.
7. GRAHAM, G. C., CORDANO, A., *Copper depletion and deficiency in the malnourished infant*, John Hopkins Med. J., 1969, 124, 139.
8. GRANICK, S., *Iron metabolism*, Bull. N. Y. Acad. Med., 1954, 30, 81.
9. HARPER, H. A., *Review of Physiological chemistry*, Ed. XIV, Lange Medical Publication, Los Altos, California, 1973.
10. HEILMEYER, L., *Les anémies sidéroachrestiques*, Le sang, 1958, 29, 465.
11. HEILMEYER, L., KELLER, W., VIVELL, O., KEIDERLING, W., BETKE, K., WOHLER, F., SCHULTZE, H. E., *Kongenitale Atransferrinämie bei einem sieben Jahre alten kind*, Deutsch. Med. Wschr., 1961, 86, 1745.
12. HEILMEYER, L., *Altes und Neues vom Eisenstoffwechsel*, Munch, Med. Wschr., 1965, 17, 805.
13. HITZIG, W., SCHMID, H., BETKE, K., ROTSCHILD, M., *Erythroleukämie mit Hämoglobinopathie und Eisenstoffwechselstörung*, Helv. Paed. Acta, 1960, 15, 203.

13 bis. HOLTZMAN, N. A. and GAUMNITZ, B. M., *Studies on the rate of release and turnover of ceruloplasmin in rat plasma*, J. Biol. Chem., 1970, 245, 2354.

14. KENDREW, J. C., PARRISCH, R. G., MARRACK, J. R., ORLEANS, E. S., *The species specificity of myoglobin*, Nature (London), 1974, 174, 946.
15. KUHN, I, N., MOUSEN, E. R., COOK, FINCK, C. A., *Iron absorbition in man*, J. Lab. Clin. Med., 1968, 71, 715.

16. LAURELL, C. B., *Plasma iron and the transport of iron in the organism*, Pharmacol. Rev., 1952, 4, 371.
17. LEE, G. R., NACHT, S., LUKENS, J. N. and CARTWRIGHT, G. E., *Iron metabolism in copper deficient swine*, J. Clin. Invest., 1968, 47, 2058.
18. LORENTZ, K., *Zur Dignität den Zöruloplasminbestimmung in der Enzymdiagnostik von Leberkrankheiten*, Schweiz. Med. Wschr., 1969, 99, 600.
19. MAZUR, A., GREEN, S., SAHA, A. and CARLETON, A., *Mechanism of release of ferritin iron in vivo by Xanthinoxidase*, J. Clin. Invest., 1958, 37, 1809.
20. OSAKI, S., JOHNSON, D. A., FRIEDEN, E., *The possible significance of the ferrous oxidase activity of ceruloplasmin in normal human serum*, J. Biol. Chem., 1966, 241, 2746.
21. O'REILLY, POLLYCOVE, M., BANK, W. J., *Iron metabolism in Wilson's disease*, Neurology, 1968, 18, 634.
22. PAOLETTI, C., BOIRON, M., TUBIANA, M., TRUHAUT, R. BERNARD, J., *Fer plasmatique et synthèse de l'hemoglobine*, Le sang, 1958,29, 492.
23. POLLYCOVE, M., MAQSOOD, M., *Existence of an erythropoietic labile pool in animals*, Nature (London), 1961, 194, 152.
24. POLLYCOVE, M., MORTIMER, R., *The quantitative determination of iron kinetics and hemoglobin synthesis in human subjects*, J. Clin. Invest., 1961, 40, 753.
25. POLLYCOVE, M., *Hemochromatosis*, în Stanbury, J. B., Wyngaarden, J. B., Fredrickson, D. S., *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, Ed. Mc Graw Hill, 1978, 1127—1164.
26. RICHTERICH, R., *Chimie clinique theorique et pratique*, Ed. Doin, Paris, 1967.
27. RIEGEL, C., THOMAS, D., *Absence of betaglobulin fraction in the serum protein of a patient with unexplained anemia*, New Eng. J. Med., 1956, 255, 434.
28. SASS-KORTSAK and BEARN, A., *Hereditary disorders of copper metabolism*, in Stanburry, I. Wyngaarden, J. B and Fredrickson, D. S., *The metabolic basis of inherited disease*, Ed. Mc Graw. Hill, 1978.
29. STERNLIEB, J. and SCHEINBERG, I. H., *The diagnosis of Wilson's disease in asymptomatic patients*, JAMA, 1963, 183, 747.
30. STURGEON, P. and BRUBAKER, C., *Copper deficiency in infants. A syndrome characterized by hypocupremia, iron deficiency anemia and hypoproteinemia*, Am. J. Dis. Child, 1956, 92, 254.
31. TĂNĂSESCU, R., *Diagnosticul hematologic*, Editura Dacia, Cluj-Napoca, 1974.
32. TODOROV, I., *Klinische Laboratoriums Untersuchungen in Kindesalter*, VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin, 1970.
33. TRIP, J. A. I., QUE, G. S., BOTTERWEG-SPAN, Y., MANDEMA, E., *The behaviour of ceruloplasmin fractions in liver disease*, Acta Med. Scand., 1969, 185, 279.
34. WALSHE, I. M., BRIGGS, I., *Ceruloplasmin in liver disease. A diagnostic pitfall*, Lancet, 1962, 2, 263.
35. WERNER, M., *Serum protein changes during the acute phase reaction*, Clinica Chimica Acta., 1969, 25, 299.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Stabiliţi corespondenţa între noţiunile de mai jos şi definiţia lor:

A. Siderofilină (transferină)
B. Apoferitină
C. Hemosiderină
D. Ceruloplasmină

I. α_2-globulină conţinînd cupru cu proprietăţi de feroxidază şi care favorizează încărcarea fierului pe siderofilină
II. β_1-globulină cu rol în transportul fierului
III. Proteină din mucoasa intestinală care fixează fierul sub formă de feritină
IV. Complex de feritină şi agregate de hidroxid de fier conţinînd aproximativ 40% fier insolubil în apă şi dînd o coloraţie albastră cu fericianura de potasiu.

2. Stabiliţi corespondenţa între necesităţile de fier ale organismului şi diferitele situaţii fiziologice înşirate mai jos:

A. Bărbat adult sau femeie după menopauză
B. Copil de un an
C. Femeie tînără care pierde lunar cca 50 ml sînge menstrual
D. Adolescent de sex masculin la pubertate
E. Gravidă în ultimele luni de sarcină

I. 1 mg zilnic
II. 1,8 mg zilnic
III. 1,2 mg zilnic
IV. 3,7 mg zilnic
V. 2 mg zilnic

3. Care dintre substanţele înşirate mai jos *nu* favorizează absorbţia fierului?

A. Acidul clorhidric
B. Acidul ascorbic (vitamina C)
C. Proteinele alimentare
D. Fosfaţii anorganici

4. În care din stările de mai jos există o creştere a absorbţiei intestinale de fier:
   A. Anemia feriprivă
   B. Ultimele luni de sarcină
   C. Anemie hemolitică
   D. Anemie pernicioasă
   E. În toate aceste situaţii
   F. În nici una

5. Care din regimurile alimentare de mai jos defavorizează absorbţia fierului alimentar:
   A. Regim bogat în produse lactate şi făinoase
   B. Regim bogat în carne şi verdeţuri
   C. Ambele
   D. Nici unul

6. Formarea de feritină la nivelul mucoasei intestinale din apoferitină şi fierul alimentar:
   A. Diminuă absorbţia de fier alimentar
   B. Favorizează absorbţia fierului.

7. Stabiliţi corespondenţa între valorile de mai jos ale sideremiei şi capacităţii totale de fixare a fierului (CTFF) şi starea clinică cu care cadrează:

A. Fier seric = 110 mg/100 ml CTFF = 340 µg/100 ml	I. Normal
B. Fier seric 30 µg/100 ml CTFF = 510 µg/100 ml	II. Hemocromatoză primară
C. Fier seric = 250 µg/100 ml CTFF = 255 µg/100 ml	III. Anemie feriprivă
D. Fier seric 10 µg/100 ml CTFF = 30 µg/100 ml	IV. Deficit sever de transferină
E. Fier seric 55 µg/100 ml CTFF = 200 µg/100 ml	V. Poliartrită cronică evolutivă

8. Supraîncărcarea cu fier în unele ciroze alcoolice se datorează:
   A. Conţinutului relativ crescut de fier al vinurilor
   B. Anemiei cu caracter macrocitar şi avînd o componentă hemolitică
   C. Absorbţiei crescute de fier, consecutivă anemiei
   D. Toate aceste mecanisme contribuie
   E. Nici unul nu este în măsură să explice acumulările de fier din cirozele alcoolice.

9. Faptul că hemocromatoza se întîlneşte de 10—20 de ori mai frecvent la bărbaţi decît la femei se explică prin aceea că:

A. Hemocromatoza este o afecţiune genetică legată de sex (respectiv de cromozomul X).
B. Femeile pierd în cursul vieţii aproximativ 10—30 g fier prin sîngele menstrual
C. Ambele explicaţii sînt valabile
D. Nici una

10. Stabiliţi corespondenţa între manifestările clinice înşirate mai jos şi boala cu care cadrează:

A. Manifestări nervoase (rigiditate, spasticitate, tulburări de vorbire) inel brun-verzui la periferia corneii, ciroză hepatică.	I. Anemie feriprivă
B. Paloare exprimată, friabilitatea părului şi ughiilor, fatigabilitate, ameţeli	II. Hemocromatoză primară
C. Ciroză hepatică, diabet zaharat, pigmentarea brun-cenuşie a pielii	III. Boala lui Wilson

11. Terapia parenterală cu fier este indicată în:

A. Anemia sideroacrestică
B. Anemia hipocromă moderată la o gravidă cu sideremia de 60 µg/100 ml şi fără tulburări digestive
C. Fenomene de carenţă de fier survenite în cadrul unui sindrom de malabsorbţie
D. În toate aceste situaţii
E. În nici una

12. Stabiliţi corespondenţa între datele obţinute la explorarea cu ^{59}Fe a metabolismului fierului şi starea patologică cu care cadrează:

A. Depurarea plasmatică rapidă a fierului radioactiv injectat (T/2 sub 50 min). Încorporarea rapidă în hemoglobina din hematiile sîngelui circulant	I. Anemie sideroacrestică
B. Depurare plasmatică întîrziată (T/2 peste 180 min). Slabă tendinţă de captare în măduva osoasă. Lipsa aproape totală de încorporare a radioactivităţii în hematii.	II. Anemie hiperregenerativă (De exemplu anemie posthemoragică)

C. Depurare plasmatică accelerată. Radioactivitatea apare rapid la nivelul sacrului şi persistă îndelungat (lipsă de golire a măduvei osoase). Foarte slabă tendinţă de incorporare a ^{59}Fe în hematiile sîngelui circulant. — III. Anemie aplastică

13. Creşterea exprimată şi concomitentă a ceruloplasminei şi transferinei (capacitate totală de fixare a fierului) se întîlneşte în:
   A. Graviditate
   B. Infecţii acute
   C. Neoplasm
   D. Hemocromatoză
   E. În toate aceste situaţii
   F. În nici una
14. Creşterea ceruloplasminei la un bolnav cu hepatită cronică progresivă denotă:
   A. Prezenţa unei componente colestatice
   B. Perturbarea severă a proteosintezelor hepatice
   C. Creşterea permeabilităţii membranei hepatocitelor
   D. Toate aceste procese
15. Scăderea ceruloplasminei se poate întîlni în:
   A. Deficitul de cupru al sugarului
   B. Enteropatie cu pierdere de proteine
   C. Tratament cu L-asparaginază al unei leucemii acute
   D. Boala lui Wilson
   E. În toate aceste afecţiuni
   F. În nici una
16. Principala funcţie a ceruloplasminei este:
   A. Transportul cuprului alimentar absorbit, spre diverse ţesuturi
   B. Activitate oxidazică şi în special rolul de feroxidază (fero-O_2-oxidoreductază)
   C. Ambele activităţi
17. Scăderea moderată a cupremiei şi scăderea exprimată a ceruloplasminei asociată cu o creştere a cuprului legat de albumine (cupru direct reactiv) la valori de aproximativ 40% din cuprul seric total sugerează:
   A. Sindromul nefrotic
   B. Carenţa de cupru
   C. Boala lui Wilson
   D. Toate aceste stări patologice
18. Boala lui Menkes se datoreşte:
   A. Unui aport dietetic insuficient de cupru
   B. Unui deficit cu caracter genetic în transportul de cupru prin celulele mucoasei intestinale şi prin placentă.

IX HEMOGLOBINA

Progresele înregistrate în ultimele decenii în cunoașterea structurii, sintezei și funcției hemoglobinei sînt deosebit de mari. Știm astăzi cum este alcătuită hemoglobina, începînd cu natura și înlănțuirea aminoacizilor din lanțurile polipeptidice și terminînd cu organizarea spațială a întregii molecule. Înșiși cunoștințele generale asupra structurii proteinelor au beneficiat mult de pe urma studierii hemoglobinei. Mai mult, hemoglobina este un model ilustrativ pentru legătura dintre structura și funcția unei proteine complexe, în diferite momente fiziologice. Studiile referitoare la hemoglobină au fost impulsionate de patologia hemoglobinei și, la rîndul lor, cunoștințele obținute au contribuit la înțelegerea multilaterală a capitolului complex și pasionant al acestei patologii. Cercetările cointeresează medici, chimiști, fizicieni, geneticieni, biologi și sînt în plină desfășurare. Importanța problematicii pe care hemoglobina o polarizează este ilustrată și de faptul că astăzi există chiar și o revistă care se ocupă numai de hemoglobină. Dintre multiplele achiziții, în plină acumulare și în permanentă reconsiderare, încercăm, în cele ce urmează, să prezentăm cîteva date referitoare la structura, sinteza, funcția și fiziopatologia hemoglobinei.

DATE PRIVIND STRUCTURA, SINTEZA ȘI FUNCȚIA HEMOGLOBINEI

Hemoglobina este principala proteină implicată în transportul oxigenului și reprezintă 90% din substanța uscată a eritrocitului. Ea este alcătuită dintr-o componentă proteică, globina, și dintr-o feroprotoporfirină (hem). Hemoglobina este un tetramer, în componența sa intrînd patru monomeri. Fiecare monomer este alcătuit dintr-un lanț proteic de globină și dintr-o moleculă de hem încorporată în partea proteică. Greutatea moleculară a hemoglobinei umane este de aproximativ 64.500 ; monomerii au greutatea moleculară aproximativ egală, în jur de 16.000 (26).

Structura hemoglobinei

Hemoglobina este alcătuită din două componente: hemul și globina.

Hemul

Hemul este gruparea comună tuturor hemoglobinelor. El este format dintr-o protoporfirină 9 (tip III) și o moleculă de fier.

Protoporfirina este produsul final al ciclului de sinteză a porfirinelor. Acestea sînt pigmenți nemetalici, formați din patru grupări pirolice unite prin punți de meten. Înlocuirea atomilor de hidrogen periferici ai pirolilor prin diferite grupări funcționale dă naștere variantelor porfirinelor (vezi pag. 220).

Sinteza porfirinelor pornește de la acidul succinic și glicocol. Condensarea acestora, mediată de acetilcoenzima A și catalizată de enzima denumită δ-aminolevulinicsintetază, dă naștere acidului δ-aminolevulinic. Prin condensarea a două molecule de acid δ-aminolevulinic, concomitent cu eliminarea a două molecule de apă, apare porfobilinogenul, un produs monopirolic. Într-o etapă următoare, prin condensarea a patru molecule de porfobilinogen, ia naștere uroporfirinogenul, primul produs tetrapirolic din ciclul sintezei porfirinelor. Din acesta, iau naștere succesiv coproporfirinogenul și protoporfirinogenul, care se transformă, la rîndul său, în protoporfirină (Fig. 9.1).

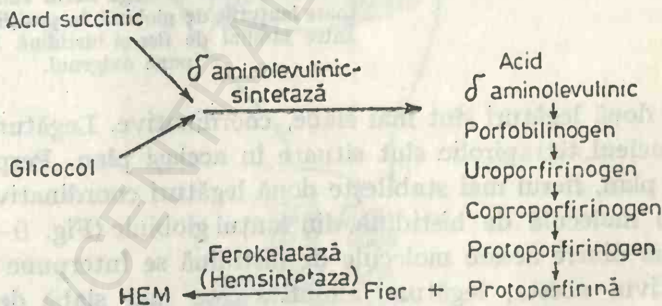


Fig. 9–1. Reprezentare schematică a sintezei hemului.

Fierul este situat în mijlocul nucleului tetrapirolic al protoporfirinei. El este legat de toți patru atomii de azot, aflați fiecare în vîrful unui nucleu pirolic (Fig. 9.2). Două dintre aceste legături sînt puternice, covalente și determină starea bivalentă a fierului.

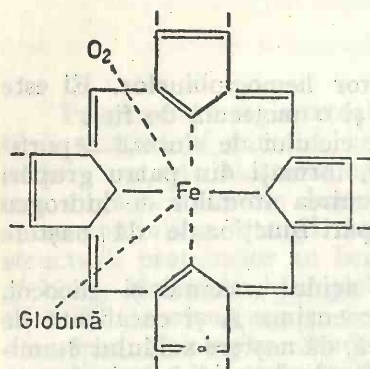


Fig. 9—2. Formula hemului (simplificată). În centru se află atomul de fier, în stare bivalentă. Acesta este legat de patru nuclee pirolice, care la rîndul lor, sînt legate între ele prin punţi metenice. De atomul de fier se leagă de asemenea oxigenul şi globina.

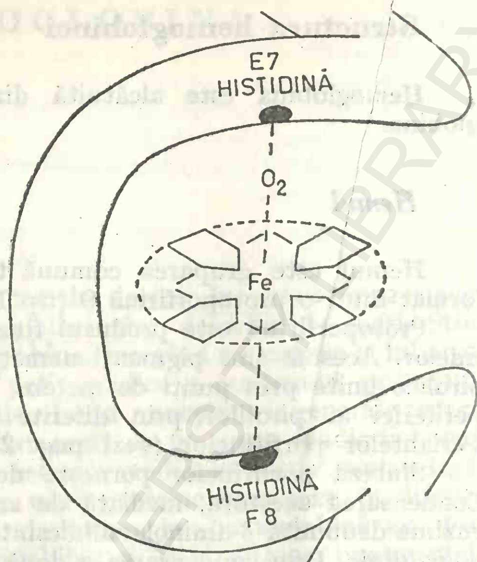


Fig. 9—3. Reprezentare schematică a modului în care se dispune hemul în raport cu lanţurile de globină. În toate lanţurile de globină, hemul este situat între segmentele helicoidale E şi F. Două legături perpendiculare pe planul în care se dispun nucleele pirolice ale protoporfirinei unesc atomul de fier cu cîte o histidină. Histidinele de care se leagă fierul sînt situate, în toate lanţurile de globină, în poziţiile E7 şi F8. Între atomul de fier şi histidină E7 se interpune oxigenul.

Celelalte două legături sînt mai slabe, coordinative. Legăturile dintre fier şi nucleul tetrapirolic sînt situate în acelaşi plan. Perpendicular pe acest plan, fierul mai stabileşte două legături coordinative, fiecare cu cîte o moleculă de histidină din lanţul globinic (Fig. 9—3). Între fier şi una dintre aceste molecule de histidină se interpune oxigenul. Din motivul acesta, legătura amintită este mai slabă decît toate celelalte legături coordinative şi permite eliberarea oxigenului captat de hemoglobină către ţesuturi (41, 44).

Procesul de cuplare a fierului cu protoporfirina are loc în interiorul mitocondriei, sub influenţa enzimei denumită hemsintetază sau ferokelatază (Fig. 9—1).

Globina

Globina este componenta proteică a hemoglobinei, reprezentînd 96% din greutatea acesteia. Ea este alcătuită din patru lanţuri polipeptidice, identice două cîte două. Lanţurile polipeptidice ale hemoglobinelor cuprind toţi cei 20 de α-aminoacizi din care se formează proteinele. În fiecare lanţ, aceştia sînt dispuşi într-o succesiune determinată genetic.

Se cunosc şase tipuri de lanţuri polipeptidice care pot fi întîlnite în formele de hemoglobină normală: α, β, γ, δ, ε, ζ. Lanţurile α au cîte 141 de aminoacizi. Lanţurile β, γ, δ, şi ε au cîte 146 de aminoacizi (44). Practic, toate hemoglobinele au cîte două lanţuri α şi o pereche din tipurile de lanţuri β, γ, δ sau ε. Combinaţiile care iau naştere definesc diferitele tipuri de hemoglobină (Fig. 9.4).

Fiecăreia dintre hemoglobine i se poate descrie o „formulă", care cuprinde simbolul lanţurilor, numărul lor şi tipul hemoglobinei. De exemplu, principala hemoglobină normală a adultului (A) cu-

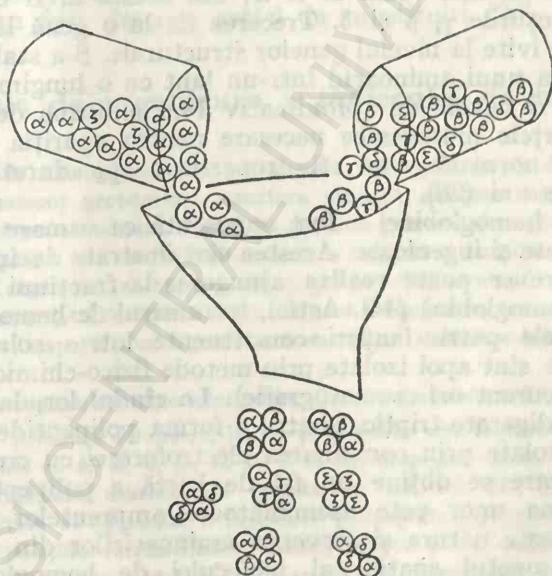


Fig. 9–4. **Prin combinarea a cîte două perechi de lanţuri de globină iau naştere tetramerii caracteristici pentru diferite tipuri de hemoglobină. În mod practic, două lanţuri α se asociază cu perechi din lanţurile β, γ, δ sau ε.**

prinde două lanţuri α şi două lanţuri β. Structura sa este notată $\alpha_2^A\beta_2^A$.

Hemoglobinele umane normale sînt:

embrionare: Gower 1 $(\zeta_2\varepsilon_2)$, Gower 2 $(\alpha_2^A\varepsilon_2)$ şi Portland 1 $(\zeta_2\gamma_2^F)$;

fetală $(\alpha_2^A\gamma_2^F)$;

adulte: majoră, $A(\alpha_2^A\beta_2^A)$ şi minoră, A_2 $(\alpha_2^A\delta_2^A)$.

Există două variante de lanţuri γ: $G\gamma$ şi $A\gamma$. Acestea determină două variante de hemoglobină F: $\alpha_2^A G\gamma_2^F$ şi $\alpha_2^A A\gamma_2^F$ (45).

Structura lanţurilor polipeptidice este determinată genetic. Asemănările existente între diferitele segmente ale diverselor lanţuri polipeptidice, în ceea ce priveşte compoziţia în aminoacizi şi succesiunea acestora, a dus la părerea că, în decursul evoluţiei filogenetice, genele structurale pentru aceste lanţuri polipeptidice au derivat unele din altele. S-a stabilit chiar o prezumtivă succesiune filogenetică. Lanţul cel mai vechi ar fi α; din acesta ar fi derivat, unul după altul, lanţurile γ, β şi δ. Trecerea de la o genă la alta are la bază mutaţiile ivite la nivelul genelor structurale. S-a stabilit că pentru substituirea unui aminoacid într-un lanţ cu o lungime de 150 de aminoacizi ar fi nevoie de aproximativ 14,5 milioane de ani. Calculînd astfel, forţele mutagenice necesare pentru apariţia formelor de hemoglobină normală s-ar fi repartizat pe durata ultimilor 600.000.000 de ani (26).

Structura hemoglobinei a fost cunoscută ca urmare a unor cercetări anevoioase şi ingenioase. Acestea sînt ilustrate de însăşi modalitatea prin care se poate realiza ajungerea la fracţiuni din ce în ce mai mici de hemoglobină (44). Astfel, tetramerul de hemoglobină este desfăcut în cele patru lanţuri constituente într-o soluţie de uree 8 M. Lanţurile sînt apoi izolate prin metode fizico-chimice (electroforeză în contracurent ori cromatografie). La rîndul lor, lanţurile polipeptidice sînt digerate triptic, pentru a forma polipeptide mai scurte. Acestea sînt izolate prin combinarea electroforezei cu cromatografia, metodă prin care se obţine un fel de hartă a polipeptidelor, care apar sub forma unor pete asemănătoare amprentelor digitale. În final, se stabileşte natura şi secvenţa aminoacizilor din fiecare polipeptid. Aranjamentul spaţial al moleculei de hemoglobină a fost elucidat prin metoda difracţiei razelor X de către hemoglobina în prealabil cristalizată.

Natura şi secvenţa aminoacizilor din lanţurile polipeptidice ale hemoglobinelor sînt astăzi binecunoscute. Fiecărui lanţ polipeptidic

i se descrie un capăt inițial N și unul terminal C. Aminoacizii sînt numerotați începînd cu capătul N al lanțului polipeptidic. Se poate spune că cei mai importanți aminoacizi din lanțurile globinice sînt histidinele din pozițiile 58 și 87, în lanțurile α, și 63 și 92, în lanțurile β; între aceste perechi de histidine sînt „suspendate" grupările hem din fiecare monomer de hemoglobină. Mutațiile care interesează aceste poziții perturbă stabilitatea atomului de fier și, în consecință, funcția hemoglobinei (26).

Aminoacizii situați la suprafața moleculei de hemoglobină (în jur de 100) emit, spre exterior, grupări polare care interacționează cu apa și fac molecula de hemoglobină solubilă (41, 44). Aminoacizii nepolari, în număr de 33, sînt situați într-o anumită ordine în interiorul moleculei de hemoglobină și constituie un fel de schelet al lanțurilor polipeptidice, cărora le conferă caracterul helicoidal și stabilitatea (41,44).

Substituirile de aminoacizi sînt posibile aproape în toate pozițiile din lanțurile polipeptidice, ducînd la apariția a numeroare variante de hemoglobină; sînt totuși cunoscute șapte poziții „invariabile", în care nu au fost descrise astfel de substituiri (26).

Treptele de organizare a moleculei de hemoglobină

Moleculei de hemoglobină i se pot descrie mai multe trepte de organizare, comune dealtfel tuturor proteinelor: structura primară, structura secundară, structura terțiară și structura cuaternară. Structura primară privește succesiunea aminoacizilor în lanțul polipeptidic, cea secundară se referă la împărțirea lanțului în segmente și la poziția acestor segmente în lungul lanțului polipeptidic, structura terțiară definește aranjarea în spațiu („tridimensională") a lanțului polipeptidic, iar cea cuaternară privește dispunerea în spațiu a celor patru monomeri care alcătuiesc tetramerul de hemoglobină (44).

Secvența aminoacizilor determină, deci, structura primară a lanțului polipeptidic.

În cadrul structurii secundare, lanțul polipeptidic este împărțit în opt segmente helicoidale (notate cu A, B, C, D, E, F, G și H), despărțite unele de altele de șapte segmente intermediare nehelicoidale (notate cu AB, BC, CD, DE, EF, FG, GH). Această modalitate de împărțire a lanțurilor polipeptidice permite și un nou fel de numerotare a pozițiilor aminoacizilor. Astfel, aceștia pot fi denumiți cu litera care marchează segmentul helicoidal în care se găsesc și cu cifra semnificînd poziția aminoacidului față de începutul segmentului. Se pot astfel decela unele asemănări importante, cu semnificație funcțională, între segmentele lanțurilor de globină. În acest sens, este suficient să arătăm că histidinele care leagă fierul sînt situate în pozițiile E7 și F8, indiferent de lanțul (α, β, γ sau δ) în care se găsesc. Aminoacizii terminali

sînt notaţi cu NA şi HC (26). În cadrul structurii secundare, lanţul polipeptidic apare în lungul său ca o succesiune de ondulări şi de spiralări (41).

Aminoacizii de la suprafaţa segmentelor helicoidale au grupări polare care se atrag sau se resping, ceea ce duce la plicaturarea lanţurilor polipeptidice. Locurile unde lanţurile polipeptidice se îndoaie sînt tocmai segmentele intermediare („coturile") nehelicoidale. Ia naştere astfel o structură spaţială caracteristică (terţiară). La menţinerea structurii terţiare a hemoglobinei participă şi hemul, care este dispus între segmentele E şi F ale lanţurilor globinice, cu care stabileşte legături Van Der Waals. Hemul este „îngropat" într-un mic „buzunar" tapetat de aminoacizi hidrofobi, care împiedică contactul apei cu fierul şi deci oxidarea ireversibilă a acestuia. Fierul din hem se leagă de cîte o moleculă de histidină din poziţiile E7 şi F8. Histidinele E7 (α58 şi β63) sînt situate opus faţă de atomul de fier, cu care nu sînt legate chimic direct şi poartă de aceea numele de histidine distale. Histidinele F8 (α87 şi β92) privesc direct fierul şi sînt legate chimic de el, motiv pentru care sînt denumite histidine proximale (44). Pe lîngă cele două histidine, la fixarea hemului mai contribuie şi fenilalanina, situată la locul de încovoiere a segmentului intermediar CD; aceasta se leagă de nucleul tetrapirolic prin legături Van Der Waals (41). Cînd hemul este extras din lăcaşul său, segmentele C, D, E şi F se deplicaturează, iar molecula de hemoglobină devine mai instabilă şi mai puţin solubilă (44).

Monomerii de hemoglobină se grupează pentru a forma tetramerul de hemoglobină, care capătă astfel forma unui sferoid cu diametrul de aproximativ 6 nm (structura cuaternară a hemoglobinei). Lanţurile omoloage intră în contact prin aminoacizii polari, situaţi la capetele lor (contactele $\alpha_1\alpha_2$, $\beta_1\beta_2$). Lanţurile heterologe intră de asemenea în contact, dar prin aminoacizi nepolari (41). Contactele $\alpha_1\beta_1$ şi α_2 β_2 sînt limitate ca importanţă. Contactele $\alpha_1\beta_2$ şi, respectiv, $\alpha_2\beta_1$ sînt însă deosebit de importante, caracterul lor influenţînd funcţia de transportor de oxigen al hemoglobinei (36, 44).

Organizarea tridimensională a tetramerului de hemoglobină a fost elucidată prin metoda difracţiei razelor X de către Perutz (36). Acesta deosebeşte două modalităţi de dispunere spaţială a tetramerului de hemoglobină, una pentru dezoxihemoglobină şi alta pentru oxihemoglobină. Aceste modalităţi de aranjare spaţială influenţează afinitatea pentru oxigen a hemoglobinei. Asupra lor se va reveni cu ocazia discutării funcţiei hemoglobinei de transportor al oxigenului. Prin proprietatea de a avea forme de organizare structurală spaţială diferite, hemoglobina este o proteină alosterică (36).

Sinteza hemoglobinei

Controlul genetic al sintezei de hemoglobină

Sinteza hemoglobinei este determinată de gene structurale şi controlată cantitativ de gene reglatoare. Există cel puţin patru perechi de gene structurale, cîte una pentru fiecare lanţ polipeptidic: α, β, γ, δ. Locusurile pentru lanţurile α şi γ sînt reduplicate (26, 44).

Genele structurale sînt inserate pe perechi de cromozomi autosomali. Lanţurile α sînt situate pe o anumită pereche de cromozomi, în timp ce o altă pereche de cromozomi autosomali cuprinde genele pentru lanţurile β, γ şi δ. Locusurile pentru lanţurile α se găsesc pe cromozomul 2. Locusurile pentru lanţurile β, γ şi δ se găsesc pe un cromozom din grupul B (4 sau 5). Aranjamentul genelor structurale pe acesta din urmă ar fi Gγ, Aγ, δ, β (Fig. 9.5) (26, 35, 44).

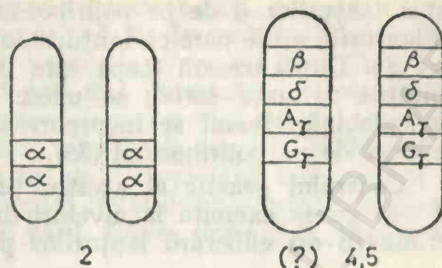


Fig. 9—5. Reprezentarea schematică a modului în care se dispun locusurile pentru genele structurale răspunzătoare de sinteza lanţurilor polipeptidice care intră în compoziţia hemoglobinelor adulte. Locusurile pentru lanţurile α sînt situate singure pe cromozomii no. 2 şi sînt reduplicate. Locusurile pentru genele structurale ale lanţurilor β, γ (G şi A) şi δ sînt aşezate unul în continuarea celuilalt pe cromozomii no. 4 sau no. 5.

Genele structurale determină calitatea lanţurilor polipeptidice de globină. Genele reglatoare controlează cantitatea care se sintetizează din lanţurile corespunzătoare. Ele sînt responsabile de trecerea succesivă, în cursul evoluţiei de la embrion la adult, de la producerea prevalentă de lanţuri ε la cea de γ şi apoi de β (45).

Toate genele pentru variantele anormale ale lanţurilor β sînt alele, adică ocupă acelaşi locus genetic cu genele normale. Genele care produc β talasemia şi persistenţa ereditară a hemoglobinei F sînt ori alelice, ori intim legate (pseudoalelice) cu cele care produc anomaliile structurale ale lanţurilor β. Probabil că şi genele pentru anomaliile structurale ale lanţurilor α sînt alele cu cele care produc α-talasemia. Anomaliile concomitente ale lanţurilor α şi β nu sînt nici alele, nici corelate (44).

Informaţia genetică care determină structura lanţurilor de globină este conţinută în secvenţa nucleotizilor din perechile de gene responsabile pentru această sinteză. Informaţia este transmisă de ARN mesager şi apoi transcrisă la nivelul poliribozomilor în structura lanţurilor de globină. Sinteza globinei continuă să se producă atîta timp cît în celulele din seria roşie există ribozomi, adică pînă în etapa de reticulocit (44, 45).

Modul de combinare a lanţurilor α şi β este încă subiect de discuţie. Există părerea că lanţurile α se eliberează într-un mic rezervor (pool), în reticulocit. Ele s-ar lega de lanţurile β care sînt încă incomplet sintetizate şi se află încă legate de poliribozomi; pentru deta-

șarea lanțurilor β de pe poliribozomi ar fi necesară combinarea lor cu lanțurile α. Se pare că lanțurile α și β se combină mai întîi ca lanțuri αβ. După această etapă este înglobat hemul și abia apoi, subunitățile formate astfel, se unesc pentru a alcătui tetramerul de hemoglobină. Hemul se încorporează, în orice caz, după eliberarea globinei de pe poliribozomi (35).

Controlul genetic al acestor procese este încă puțin cunoscut. El s-ar putea exercita la niveluri diferite: al transcrierii, traducerii, terminării ori eliberării lanțurilor polipeptidice etc. (45).

Sinteza hemoglobinei umane în cursul dezvoltării ontogenetice

Tipul de hemoglobină sintetizată depinde de momentul dezvoltării individului. Lanțurile din diferitele hemoglobine și momentul apariției lor sînt cuprinse în Fig. 9.6.

Există trei tipuri de hemoglobină specifice stadiului embrinar: Gower 1, Gower 2 și Portland 1. Hemoglobinele Gower 1 și Gower 2 se deosebesc între ele prin migrarea în gel de amidon. În cei mai mici embrioni examinați pînă acum (cu lungime de 1,6 cm, aproximativ

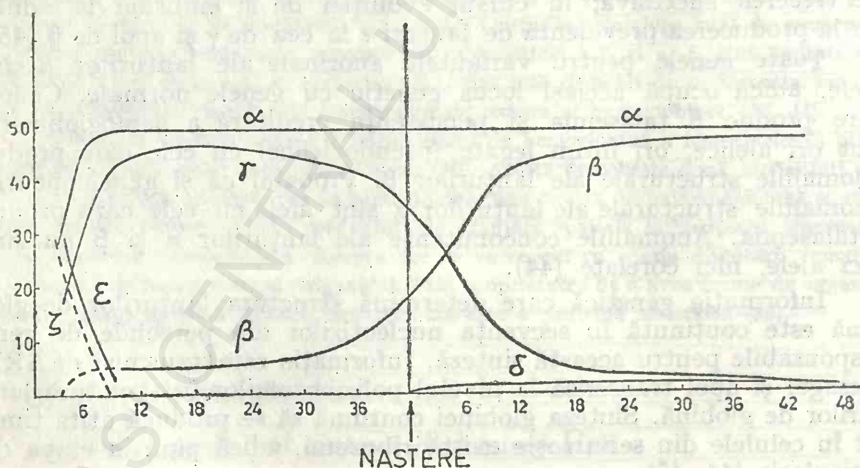


Fig. 9–6. Rata sintezei diferitelor lanțuri de globină umană în decursul dezvoltării ontogenetice (după Wood). Pe abscisă sînt marcate săptămînile din perioada postconceptuală și din perioada postnatală. Pe ordonată este marcat procentul din sinteza totală a globinei. Liniile punctate arată tipul probabil de sinteză a globinei în perioada fetală timpurie.

ziua 37 de gestație), cele două tipuri reprezintă 42%, respectiv, 24%, restul fiind în mare măsură hemoglobină F. În embrionii mai mari, proporția celor două hemoglobine descrește, în așa fel încît, în embrionii cu lungime de 6 cm, ele nu mai sînt detectabile. Hemoglobina embrionară Portland 1 are migrarea electroforetică foarte apropiată de cea a hemoglobinei A. De aceea, momentele apariției și dispariției sale sînt greu de apreciat. Acest tip de hemoglobină este prezent în proporție de 3—20% în embrionii de 3 cm și dispare practic în săptămîna a 10-a de gestație; s-au mai găsit, totuși, urme și în sîngele din cordonul ombilical (45).

Hemoglobina F apare în proporție de 30% chiar și la cel mai mic embrion examinat pînă în prezent (cel de 1,6 cm). Ea sporește rapid pînă în săptămîna a 8-a de gestație, cînd ajunge la 90% din cantitatea totală de hemoglobină, și rămîne forma majoră de hemoglobină în tot restul gestației (44, 45).

Hemoglobina A apare încă din viața fetală, cînd însă este greu de diferențiat de hemoglobina Portland 1. Ea se decelează încă din săptămîna a 6-a de gestație. Creșterea producției de hemoglobină A are loc în săptămînile 32—36 de gestație, concomitent cu scăderea producerii de hemoglobină F. Procesul de comutare a sintezei de la tipul F la tipul A este inițiat brusc, dar continuă treptat. La patru luni de la naștere, hemoglobina F reprezintă 10% din cantitatea totală de hemoglobină; se pare însă că la cantitatea de sub 1%, cît se găsește la adultul normal, se ajunge cu mult mai tîrziu. Procesul de trecere de la producerea de hemoglobină F la cea de hemoglobină A are ca substrat scăderea masei de eritron specializat în sintetizarea hemoglobinei F. La adult, populația de celule eritroformatoare ce sintetizează hemoglobina F este de numai 7% din totalitatea eritronului (45).

Sinteza hemoglobinei A_2 nu a fost înregistrată la făt. În cordonul ombilical, ea apare numai în proporție de 0,2%. După naștere, cantitatea de hemoglobină A_2 crește progresiv, ajungînd la nivelul de 2,5 % (cel al adultului normal) în interval de cîteva luni (45).

Raportul dintre sinteza hemului și a globinei

Producerea de globină are loc în același timp cu producerea de hem. Acești doi componenți ai hemoglobinei, deși posedă fiecare un control propriu al sintezei, au o rată de producere coordonată (42). Legarea glicinei de acidul succinic, pentru formarea acidului δ-aminolevulinic, reacție catalizată de δ-aminolevulinicsintetază, este inhibată, prin mecanism de feedback, pe măsură ce hemul se acumulează

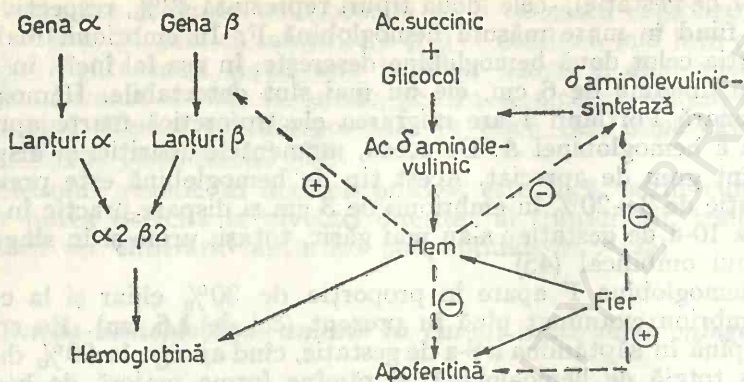


Fig. 9–7. Reprezentare schematică a locului pe care îl ocupă hemul în sinteza hemoglobinei (după Weatherall).
Liniile pline trasează cursul sintezei hemoglobinei. Liniile punctate indică influența inhibitoare (–) sau stimulantă (+) exercitată de hem sau de fier. Hemul ocupă un loc central atît în metabolismul hemoglobinei, cît și al fierului. El stimulează sinteza globinei și, prin mecanism de feedback, își scade propria sinteză. Hemul scade sinteza apoferitinei în precursorii eritrocitari. Fierul crește sinteza hemului și apoferitinei dar, cînd se găsește în exces, poate inhiba sinteza hemului.

în eritrocit. Pe de altă parte, hemul stimulează producerea lanțurilor de globină. Dacă hemul lipsește, poliribozomii se dezagregă și sinteza de globină încetează; procesul este reversibil (44). Hemul ar acționa deci la nivelul stadiului de inițiere a sintezei lanțurilor polipeptidice (44). Fierul stimulează sinteza de hem în mod direct, dar prezența sa în exces poate determina inhibiția stadiilor precoce de sinteză a hemului. În esență, hemul are un loc central atît în metabolismul hemoglobinei, cît și al fierului ca atare (fig. 9–7)

Raportul dintre sinteza hemoglobinei și diferențierea seriei eritrocitare

Sinteza hemoglobinei are loc la nivelul sistemului eritroformator. Acesta are ca precursor celula sușă pluripotentă. Din această primă celulă pot deriva atît seria eritrocitară, cît și seriile granulocitară și trombocitară. Din celula sușă ia naștere o celulă potențial angajată în direcția eritropoiezei; aceasta este prima din serie care răspunde la acțiunea eritropoietinei. Se pare că masa acestor celule potențial angajate spre eritropoieză este heterogenă; unele dintre celulele care

răspund la eritropoietină ar fi rezultate din diviziunea precursorilor seriei eritrocitare, în timp ce altele ar fi de fapt, practic, proeritroblaşti. Ca rezultat al stimulării celulelor care răspund la eritropoietină, se produc în număr mare proeritroblaştii. Din proeritroblaşti iau naştere, în serie, eritroblaştii bazofili, policromatofili (în care este evidentă sinteza hemoglobinei) şi oxifili (în care hemoglobina este acumulată în cantitate considerabilă). Pe parcursul diferenţierii seriei eritrocitare, nucleul celulelor devine tot mai dens şi mai mic, pentru ca, după stadiul de eritroblast oxifil, el să se elimine. Astfel ia naştere reticulocitul, în care, dată fiind persistenţa poliribozomilor, sinteza hemoglobinei continuă să se producă. Cînd poliribozomii dispar, sinteza hemoglobinei încetează, iar reticulocitul devine eritrocit.

De notat că proeritroblastul poate să se diferenţieze pînă la eritrocit şi în absenţa eritropoietinei, dar în prezenţa acesteia procesul este mult accelerat.

Acumularea hemoglobinei începe, se pare, în stadiul de eritroblast policromatofil, dar acumularea de ARN mesager, martor al iniţierii sintezei globinei, poate fi decelată şi mai precoce, chiar în proeritroblast (35).

Reglarea eritropoiezei

Controlul eritronului, în condiţiile unui aport satisfăcător al tuturor factorilor necesari din punct de vedere metabolic (Fe, acid folic, vitamină B_{12} etc.) este complex. Răspunsul la diferite modificări ale mediului este mediat prin mecanisme de feedback. Acestea operează la cel puţin două niveluri. Un prim tip de control pare să se exercite asupra celulei suşă pluripotente. Turnoverul acestor celule creşte ca rezultat al hipoxiei ori anemiei severe şi prelungite. Mecanismul prin care este menţinută masa celulelor suşă nu este cunoscut. Se crede că inhibiţia acestor celule este asigurată de intervenţia unor molecule specifice („chalone") produse de celulele mature. Natura factorilor incriminaţi în apariţia celulelor angajate spre seria eritrocitară este încă puţin cunoscută (35); s-a discutat o eventuală intervenţie a eritropoietinei deja din această etapă. Acţiunea controlului umoral exercitat de eritropoietină se amplifică însă progresiv, fiind certă şi deosebit de pregnantă la nivelul celulelor angajate spre seria eritrocitară. În absenţa eritropoietinei, precursorii angajaţi (celulele care răspund la eritropoietină) nu se mai maturează sau se maturează numai ocazional (35). În prezenţa eritropoietinei, o parte dintre aceste celule sînt stimulate pe calea maturării lor terminale,

care duce, într-o primă etapă, la formarea de proeritroblaşti. Din acest moment, celulele se îndreaptă în mod inexorabil spre formarea de eritrocite mature; rata maturaţiei celulelor este însă mult accelerată de eritropoietină (2, 35).

Eritropoietina este o α_1-glicoproteină care nu dializează şi are în moleculă acid neuraminic (4, 5, 16). Greutatea sa moleculară a fost controversată, fiind apreciată diferit, în funcţie de gradul purificării sale (2, 6, 14). Obţinerea, de dată recentă, a eritropoietinei pure a permis constatarea că greutatea moleculară a acestei substanţe este de 60.000—70.000 (24).

Modul de acţiune a eritropoietinei este parţial elucidat. Se ştie că eritropoietina stimulează atît proliferarea, cît şi maturarea celulei precursoare a seriei eritrocitare (celula care răspunde la eritropoietină) şi determină transformarea acesteia în proeritroblast (2, 35). Eritropoietina stimulază sinteza de ARN mesager, ca urmare a activării genelor structurale şi reglatoare implicate în sinteza hemoglobinei. Stimularea producerii de celule din seria roşie se desfăşoară deci concomitent cu stimularea de către eritropoietină a însăşi sintezei de hemoglobină (14, 22). Hormonul activează de asemenea producerea de elemente intermediare din seria roşie, descărcarea elementelor din seria eritrocitară din măduva roşie hematogenă, precum şi creşterea absorbţiei intestinale a fierului (14).

Modul de producere a eritropoietinei a fost mult discutat. Rolul rinichiului în producerea unui factor umoral activ asupra eritropoiezei este argumentat de cercetări experimentale şi de observaţii clinice (14). Există însă şi dovezi că rinichiul nu are un rol exclusiv în producerea factorului umoral stimulator al eritropoiezei (3, 14).

Se admite azi că factorul renal stimulator al eritropoiezei nu este de fapt eritropoietina. Factorul renal stimulator ar fi de fapt o protează ce ar activa o α_1-globulină de origine hepatică ce devine astfel eritropoietină (17). Locul exact al producerii factorului renal stimulator al eritropoiezei este discutat. Au fost considerate pe rînd toate structurile renale, dar mai ales aparatul juxtaglomerular (14). Există părerea că endoteliile capilare renale, şi în general endoteliile capilare (şi sistemul reticuloendotelial în general), participă la producerea de eritropoietină (2). Alte proteaze decît cele de origine renală, precum şi unele hidrolaze de origine lizozomală, pot activa de asemenea α_1-globulinele hepatice generatoare de eritropoietină (2, 2b).

Stimulul ce reglează secreţia factorului renal stimulator al eritropoiezei este reprezentat de nivelul oxigenării sîngelui arterial. Hipoxemia determină creşterea sintezei acestui factor (14); totuşi, ischemierea rinichiului izolat transplantat în circulaţia carotido-jugulară

a cîinelui nu determină creşterea factorului renal stimulator al eritropoiezei (3).

Rolul hipoxiei tisulare în stimularea eritropoiezei este azi unanim recunoscut (vezi şi pag. 162). Este binecunoscut rolul stimulator asupra eritropoiezei pe care îl are hipoxia severă de altitudine, cea din cardiopatiile congenitale cianogene ori din fistulele pulmonare arterio-venoase (19,44). La fel de bine este cunoscută poliglobulia care apare în insuficienţa respiratorie cronică („poliglobulia respiratorie") (19,44). Poliglobulia apare la saturaţii ale hemoglobinei arteriale cu oxigen, de obicei, sub 90% şi de regulă la saturaţii sub 80% (18, 19, 31). În general, există o bună corelaţie între gradul hipoxemiei şi nivelul reacţiei eritropoietice, exceptînd cazul hipoxemiilor foarte severe, cînd eritropoieza este stimulată necorelat sau chiar, poate, inhibată (18, 31). În insuficienţa respiratorie cronică, nivelul eritropoiezei nu este însă strict dependent de mărimea hipoxemiei. Eritropoieza este inhibată prin mecanisme complexe de infecţiile bronhopulmonare şi limitată de scăderea frecventă a sideremiei. Sideropenia rezultă atît din acţiunea infecţiilor, cît şi din accelerarea turnoverului fierului sub influenţa hipoxiei. În plus, durata hipoxemiei semnificative din insuficienţa respiratorie cronică este variabilă şi, pe de altă parte, hipoxia tisulară declanşează mecanisme compensatorii cardiovasculare (îndeosebi creşterea debitului cardiac), ceea ce influenţează de asemenea corelaţia dintre nivelul eritropoiezei şi hipoxie (18, 19, 33).

Nivelul eritropoietinei plasmatice creşte prompt ca răspuns la hipoxie, dar la continuarea expunerii la hipoxie scade, revenind la normal la 72 de ore. Această dinamică ar putea fi explicată prin utilizarea eritropoietinei de către măduvă, prin diminuarea producerii sale ca urmare a modificării curbei de disociere a oxihemoglobinei în momentul instalării hipoxiei, prin distrugerea catabolică în rinichi a eritropoietinei, prin sechestrarea sa hepatică sau prin producerea unor inhibitori. Se presupune că înşişi nivelurile crescute ale eritropoietinei ar determina scăderea lor ulterioară. Feedback-ul negativ în geneza eritropoietinei se exercită prin scăderea cantităţii sau a disponibilităţii de eritropoietinogen hepatic şi/sau eritrogenină (14, 35).

În momentul de faţă, factorii proteici implicaţi în sinteza eritropoietinei sînt denumiţi eritrogenină (factorul renal stimulator al eritropoiezei) şi eritropoietinogen (precursorul hepatic al eritropoietinei). Eritrogenina determină transformarea eritropoietinogenului în eritropoietină (17). Proteaze de alte provenienţe decît cea renală, eliberate sub acţiunea hipoxiei, pot determina, de asemenea, activarea eritropoiezei (2) (Fig. 9.8).

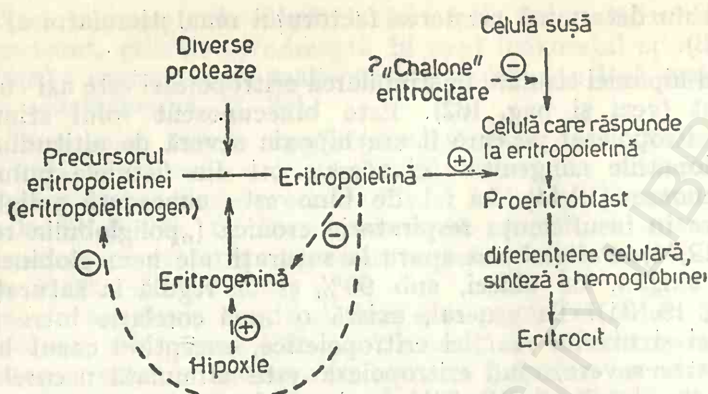


Fig. 9—8. Schema mecanismelor probabile de control al diferenţierii celulelor din seria eritrocitară (după J. Paul, modificată). Liniile punctate marchează influenţele stimulatoare (+) ori inhibitoare (—).

Creşterea cantităţii de eritropoietină de diverse origini (hipoxie, tumori ori chisturi renale, angioame cerebeloase etc.) determină apariţia de poliglobulii. Invers, scăderea secreţiei de eritropoietină (în insuficienţa renală cronică, tumori, infecţii, poliartrită reumatoidă etc.) determină apariţia de anemii cu caracter hipoplazic (44).

Alături de mecanismul umoral de stimulare a eritropoiezei şi în strînsă legătură cu acesta este *mecanismul nervos*. Centrii nervoşi prin care se reglează eritropoieza sînt localizaţi în hipotalamus şi formaţia reticulată bulbară, iar excitantul specific al acestor centri este hipoxia. Există dovezi că hipoxia activează aceşti centri nervoşi atît direct cît şi pe cale reflexă. Calea reflexă pornind de la chemoceptorii sino-carotidieni determină lansarea (citodiabaza) de eritrocite. Acest mecanism prompt se însoţeşte de polipnee şi tahicardie şi este menit a face faţă necesităţilor imediate. Mecanismul reflex sinocarotidian nu stimulează însă secreţia de eritropoietină. În schimb, acţiunea directă a hipoxiei asupra sistemului nervos central determină eliberarea din ficat şi sistemul reticuloendotelial a factorului eritropoietic α_1-globulinic, care s-ar activa ulterior. Acest mecanism neuroumoral intervine mai tardiv şi determină poliglobulie prin intermediul secreţiei de eritropoietină. Se pare că cele două mecanisme descrise, cel neuroreflex şi cel neuroumoral sînt controlate de grupuri diferite de celule din sistemul nervos central. În orice caz, calea eferentă a reglării nervoase a eritropoiezei este reprezentată de simpatic, iar blocarea receptorilor β adrenergici diminuă reacţia eritropoietică indusă de hipoxie (1, 2, 6b).

Pe lîngă mecanismul stimulator umoral al eritropoiezei, s-a descris şi unul inhibitor. A fost descris un factor umoral inhibitor al eritropoiezei, care apare în plasma animalelor sau oamenilor la 72 ore de la sistarea expunerii la hipoxie (11, 23, 27, 28, 37). Inhibitorul umoral al eritropoiezei se găseşte însă în mod constant şi în urina oamenilor normali (28). Echilibrul dintre factorul stimulator şi cel inhibitor al eritropoiezei determină în bună măsură nivelul eritropoiezei (11). Factorul plasmatic inhibitor al eritropoiezei creşte în unele boli renale, se găseşte în policitemia vera şi în unele anemii aplastice (27, 28). El apare în momentul corectării hipoxiei la bolnavii de cord pulmonar cronic, secundar insuficienţei respiratorii cronice, care aveau, iniţial, în plasmă factorul stimulator al eritropoiezei (32). Mecanismul de acţiune a factorului inhibitor al eritropoiezei nu este încă precizat. Este posibil ca acesta să inhibe efectele eritropoietinei asupra celulelor eritroide (11), să neutralizeze chimic factorul stimulator al eritropoiezei (27), ori să fie un inhibitor tisular specific al mitozelor, de tip „chalone" (39) (vezi pag. 129).

Hemoglobina şi transportul oxigenului

Funcţia principală a hemoglobinei este aceea de a transporta oxigenul de la plămîni la ţesuturi. Pe lîngă aceasta, hemoglobina intervine în transportul bioxidului de carbon şi, prin echilibrul dintre formele oxigenată şi redusă, intervine direct în menţinerea echilibrului acidobazic al sîngelui (vezi cap. „Echilibrul acido-bazic").

Curba disocierii oxihemoglobinei

Fixarea şi eliberarea de pe hemoglobină a oxigenului se fac după curba disocierii oxihemoglobinei (sau a fixării oxigenului pe hemoglobină) (Fig. 9—9). Fiecare subunitate (monomer) de hemoglobină fixează oxigenul după o curbă care are aspectul de hiperbolă rectangulară. Fixarea oxigenului pe tetramerul de hemoglobină se face însă nu după o astfel de curbă, ci după una cu aspectul de S italic. Aceasta arată că iniţial oxigenul se fixează pe hemoglobină cu o oarecare dificultate; pe măsură însă ce oxigenul se leagă de hemoglobină, capacitatea acesteia de a capta oxigenul creşte foarte mult.

Diferenţa dintre afinitatea pentru oxigen a monomerilor şi cea a tetramerului de hemoglobină este explicată prin particularităţile de organizare spaţială ale celor două forme, oxi şi dezoxi, ale hemoglobinei. Dezoxihemoglobina (hemoglobina redusă) are o afinitate pentru oxigen mai mică decît oxihemoglobina. Hemoglobina parţial oxigenată ajunge să fie de 55 de ori mai avidă de oxigen decît hemoglobina neoxigenată (36).

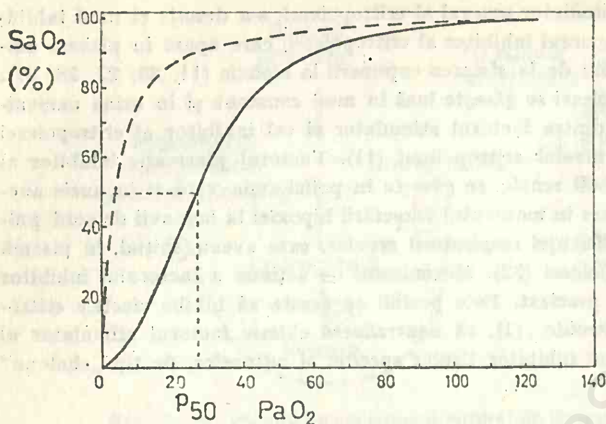


Fig. 9—9. Curba de disociere a oxihemoglobinei în comparaţie cu curba de disociere a oximioglobinei (modificată după Clarke, „Topics in Physical Chemistry" 1946, citat de Mazur şi Harrow).
Pe ordonată este indicată saturaţia cu oxigen iar pe abscisă presiunea oxigenului în mediu (mmHg). Linia punctată trasează curba de disocierea a oximioglobinei. Curba de disociere a oxihemoglobinei, la pH 7,4 este trasată prin linie plină. Curba de disociere a oximioglobinei este similară cu cea a unui monomer de hemoglobină şi are forma unei hiperbole rectangulare. Spre deosebire de aceasta, curba de disociere a oxihemoglobinei are forma unui S italic. Această diferenţă este legată de interacţiunea dintre monomerii de hemoglobină, care determină modificarea afinităţii pentru oxigen a tetramerului de hemoglobină. Afinitatea hemoglobinei faţă de oxigen este determinată practic prin p_{50}, adică presiunea parţială a oxigenului din mediul în care se găseşte hemoglobina, necesară pentru a satura cu oxigen 50% din cantitatea totală de hemoglobină.

Afinitatea hemoglobinei faţă de oxigen este exprimată prin p_{50}, adică presiunea parţială a oxigenului din mediu care este necesară pentru a determina saturarea cu oxigen a 50 % din cantitatea de hemoglobină (fig. 9—9). Creşterea p_{50} arată că afinitatea faţă de oxigen a hemoglobinei scade (cu alte cuvinte pierde mai uşor oxigenul şi îl leagă mai greu). Scăderea p_{50} arată că hemoglobina leagă mai uşor oxigenul şi îl pierde mai greu. Afinitatea hemoglobinei faţă de oxigen (exprimată curent prin p_{50}) este influenţată de concentraţia în mediu a CO_2, Cl, HPO_4, 2,3, difosfogliceratului (DPG) şi de pH. Modificările tuturor acestor factori influenţează reciproc acţiunile de schimbare a afinităţii hemoglobinei faţă de oxigen. Toate interacţiunile descrise mai sus, care influenţează afinitatea hemoglobinei faţă de oxigen au fost cuprinse de către Perutz sub termenul comun de efecte „cooperative" ale hemoglobinei (36). Acestea sînt proprietăţi ale tetramerului de hemoglobină şi dispar în momentul clivării moleculei de hemoglobină în monomeri sau dimeri liberi, fapt care arată că efectele cooperative sînt legate de relaţiile dintre subunităţile hemoglobinei (36).

Perutz arată că monomerii de hemoglobină (α şi β) intră în contact în mod diferit în forma dezoxi, comparativ cu forma oxi a hemoglobinei. În forma dezoxi, monomerii de hemoglobină suferă distorsiuni numeroase, din cauza unor variate punţi saline, legături Van Der Waals şi de hidrogen, care apar în lungul lanţurilor β şi îndeosebi la nivelul interferenţei dintre lanţurile α_1 şi β_2. La aceste distorsiuni contribuie şi legăturile formate de DPG, care este dispus între lanţurile β, cu monomerii de hemoglobină (fig. 9—10). Distorsiunile amintite fac ca buzunarele hemice din lanţurile β să fie mai mici, mai puţin cuprinzătoare pentru oxigen. În plus, în forma dezoxi, atomul de fier se găseşte în afara planului porfirinei hemului corespunzător. Toate acestea explică afinitatea joasă a formei dezoxi a hemoglobinei pentru oxigen. Spre deosebire de aceasta, în forma oxi punţile saline se rup, iar DPG dispare din mijlocul tetramerului de hemoglobină; la ruperea punţilor saline contribuie şi reintrarea în planul hemic a fierului, fenomen care se însoţeşte de „împingerea" în afara buzunarului hemic a unor aminoacizi. Deoarece în forma oxi monomerii de hemoglobină (îndeosebi cei β) nu au atîtea distorsiuni, accesul oxigenului la hem este mai uşor şi fiecare monomer de hemoglobină are aceeaşi afinitate faţă de oxigen ca şi cum ar fi liber (7, 29, 36, 44).

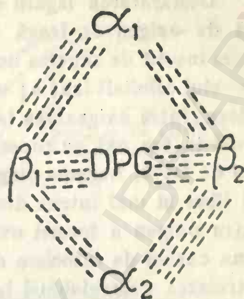
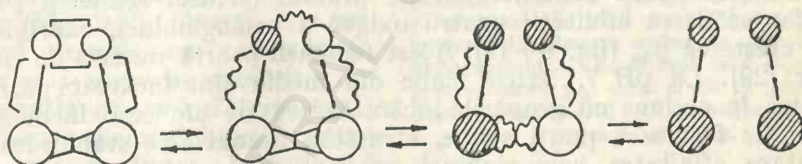


Fig. 9—10. Reprezentare schematică a poziţiei pe care o are 2,3, difosfogliceratul (DPG) în cadrul tetramerului de hemoglobină.



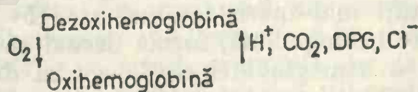


Fig. 9—11. Diagrama mecanismului alosteric al hemoglobinei (după Perutz). Cercurile mici reprezintă subunităţile α ale hemogobinei, iar cele mari subunităţile β. Legăturile marcate între subunităţile β sînt cele stabilite de către DPG. Cercurile haşurate reprezintă subunităţile de hemoglobină oxigenate. Liniile ondulate indică relaxarea legăturilor dintre componentele hemoglobinei. Se observă că, pe măsură ce subunităţile hemoglobinei se oxigenează, legăturile dintre ele, precum şi legăturile stabilite de către DPG se relaxează şi apoi se rup. Structura spaţială „dezoxi" face loc structurii spaţiale „oxi". Între dezoxihemoglobină şi oxihemoglobină există un echilibru dinamic influenţat de efectorii alosterici.

Desfăşurarea legării oxigenului de hemoglobină ar fi următoarea: prima moleculă de oxigen se leagă de un lanţ α, căruia îi deplasează segmentul helicoidal F, proces însoţit de ruperea unor punţi saline; a doua moleculă de oxigen face acelaşi lucru la nivelul celuilalt lanţ α; ulterior, fenomenul se produce similar, succesiv, la lanţurile β; undeva, între oxigenarea lanţurilor α şi β, structura hemoglobinei virează de la forma dezoxi la cea oxi, cu ruperea punţilor saline de la interfaţa $\alpha_1\beta_2$ şi cu expulzarea moleculei de DPG. Legarea oxigenului de ultimii monomeri de hemoglobină se face cu mult mai liber şi mai intens decît de primii doi monomeri (fig. 9—11). De aceea afinitatea pentru oxigen a formei oxi a hemoglobinei este mai mare decît a formei dezoxi, iar forma curbei de disociere a oxihemoglobinei este de S italic (35, 44). În acelaşi timp cu trecerea hemoglobinei la forma oxi, stabilitatea formei dezoxi scade şi stabilitatea formei oxi creşte. Dacă în acest moment în mediul în care se află hemoglobina cresc cantităţile de H^+, DPG, CO_2, Cl^-, stabilitatea formei oxi scade, forma dezoxi devine cea mai stabilă şi hemoglobina are tendinţa să piardă oxigenul (35).

Efectele CO_2, H^+ şi difosfogliceratului (DPG) asupra transportului de oxigen

Substanţele care stabilizează formele sterice ale hemoglobinei poartă numele de efectori alosterici (35). Între aceştia, de mare importanţă sînt H^+, CO_2 şi DPG, care stabilizează forma dezoxi prin formarea de punţi saline (21).

Prin creşterea concentraţiei de protoni (şi deci scăderea pH), are loc scăderea afinităţii pentru oxigen a hemoglobinei, exprimată prin creşterea p_{50} (fig. 9—12). Acest fenomen poartă numele de efect Bohr (29). La pH 7, bazele slabe din mediu sînt încărcate pozitiv şi intră în acţiune cu grupările încărcate negativ ale dezoxihemoglobinei. Se formează punţi saline, structura dezoxi este stabilizată şi ca atare afinitatea hemoglobinei pentru oxigen scade. Fenomenul este avantajos la nivelul ţesuturilor. Aici, pe măsură ce CO_2 se produce în cantităţi mai mari, iau naştere H^+ în exces. Aceştia sînt captaţi de către hemoglobină, forma dezoxi se stabilizează, afinitatea pentru oxigen a hemoglobinei scade, curba de disociere a oxihemoglobinei deviază la dreapta şi oxigenul se eliberează cu mai mare uşurinţă. Acesta este un important mecanism de adaptare faţă de hipoxia tisulară, cu mobilizare rapidă, care face ca, în condiţii de hipoxemie, prin eliberarea mai activă a oxigenului, ţesuturile să fie aprovizionate cu o cantitate de oxigen mai apropiată de nevoi (21, 29).

Bioxidul de carbon se leagă reversibil de grupările aminice ale hemoglobinei, formînd compuşi carbamino. Legarea se produce mai mult de structura dezoxi, decît de structura oxi. Ca urmare a stabili-

zării formei dezoxi, are loc scăderea afinității hemoglobinei față de oxigen. Explicația structurală a acestui efect este probabil o punte salină între carbamatul încărcat negativ și un grup încărcat pozitiv din structura dezoxi (21). În cordul pulmonar cronic de cauză respiratorie, care evoluează cu hipoventilație alveolară, hipercapnie și acidemie, hipercapnia și mărirea concentrației de H^+ deplasează curba de disociere a oxihemoglobinei la dreapta (Fig. 9.12), ceea ce duce la eliberarea mai activă, compensatorie, a oxigenului către țesuturi. În același timp, creșterea procentului de hemoglobină redusă (dezoxi) accentuează cianoza.

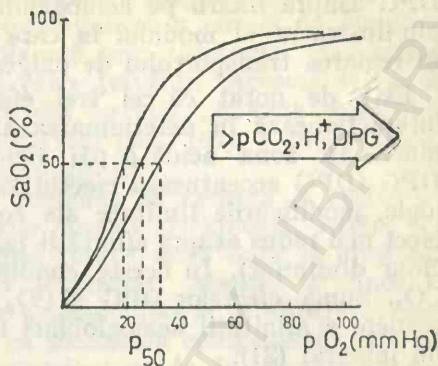


Fig. 9—12. Acțiunea efectorilor alosterici asupra curbei de disociere a oxihemoglobinei. Creșterea, în mediul ambiant al hemoglobinei, a cantității de CO_2 (și deci a pCO_2), a ionilor de H (și deci scăderea pH), precum și a 2, 3, difosfogliceratului (DPG) determină devierea la dreapta a curbei de disociere a oxihemoglobinei. Ca urmare, presiunea oxigenului din mediu la care hemoglobina este oxigenată în proporție de 50% (p_{50}) crește. Cu alte cuvinte, hemoglobina devine mai puțin avidă față de oxigen, pe care îl cedează mai ușor. Dimpotrivă, scăderea pCO_2, creșterea pH și scăderea cantității de DPG determină devierea la stînga a curbei de disociere a oxihemoglobinei. Acest fapt este exprimat prin scăderea p_{50}, care arată că hemoglobina este mai avidă față de oxigen, pe care îl cedează mai greu.

În același sens acționează și DPG, un compus rezultat din metabolismul hidraților de carbon (Fig. 9.12). Acesta este fosfatul organic cu concentrația cea mai mare în eritrocit (concentrația sa molară este egală cu cea a hemoglobinei). Situat în spațiul dintre lanțurile β ale dezoxihemoglobinei, DPG formează un mănunchi de legături cu grupări încărcate pozitiv din monomeri învecinați, dînd naștere la punți saline. În oxihemoglobină, lanțurile β se mișcă unul către celălalt, eliminînd DPG și scăzînd constanta sa de legare. Locul în care se leagă DPG de hemoglobină explică diferența de afinitate pentru oxigen care există între hemoglobinele A și F, in vivo. S-a putut preciza că, la locul unde se leagă DPG, hemoglobina F are un aminoacid mai puțin încărcat decît cel care ocupă această poziție în hemoglobina A; de aceea, DPG se leagă mai puțin de hemoglobina F, care dobîndește astfel o afinitate mai mare pentru oxigen. Această particularitate adaptează hemoglobina F la condițiile particulare de transport al oxigenului, de la făt (21, 29, 44). Efectul

DPG asupra fixării pe hemoglobină a oxigenului reprezintă un exemplu ilustrativ al modului în care metabolismul eritrocitelor intervine în reglarea transportului de oxigen.

Este de notat că cei trei efectori alosterici menţionaţi mai sus interacţionează în determinarea afinităţii pentru oxigen a hemoglobinei. În zona acidă a pH fiziologic, predomină acţiunea H^+ şi DPG (DPG accentuează efectul Bohr). De cealaltă parte a pH fiziologic, modificările limitate ale concentraţiei de H^+ şi DPG au un efect mai redus asupra afinităţii faţă de oxigen a hemoglobinei (efect Bohr diminuat). În aceste condiţii, principalul efector alosteric este CO_2. Suma efectelor DPG şi CO_2 asupra hemoglobinei pure este de scădere a afinităţii hemoglobinei faţă de oxigen pînă la cea a sîngelui integral (21).

Importanţa clinică a variaţiilor curbei de disociere a oxihemoglobinei

Datele de biochimie prezentate mai sus cîştigă o tot mai mare importanţă clinică. În practică, echilibrul dintre oxigen şi hemoglobină poate fi apreciat prin măsurarea, în sîngele bolnavilor, a p_{50} şi a cantităţii de DPG. În general, creşterea cantităţii de DPG duce la creşterea p_{50}, indicînd scăderea afinităţii pentru oxigen a hemoglobinei. În evaluarea semnificaţiei acestor date, trebuie însă să se ţină seama şi de ceilalţi factori care influenţează echilibrul dintre oxigen şi hemoglobină: pH, $PaCO_2$, temperatura, nivelul oxidului de carbon, nivelul fosfaţilor intraeritrocitari de o altă natură decît DPG şi raportul dintre DPG legat de membrana eritrocitară şi DPG liber, activ.

Curbele de disociere a oxihemoglobinei, exprimate în p_{50}, au fost determinate în numeroase condiţii clinice. Au fost observate o serie de boli în care curbele deviază de la normal.

Creşterea afinităţii hemoglobinei pentru oxigen (exprimată prin scăderea p_{50}) are ca urmare devierea la stînga a curbei de disociere a oxihemoglobinei. În această situaţie, oxigenul este eliberat cu mai mare dificultate către ţesuturi. Starea a fost întîlnită în hipofosfatemii, transfuzii de sînge stocat timp îndelungat, hemodializă, uz cronic îndelungat de preparate antiacide, în unele boli hematologice rare (hemoglobinopatii, anemia cu deficit de hexokinază, creşterea nivelului hemoglobinei F), în creşterea cantităţii de carboxihemoglobină (poluare atmosferică, fumat de ţigarete), şocul septic, alcaloza acută, hipotiroidism (30).

Scăderea afinității hemoglobinei față de oxigen (exprimată prin creșterea p_{50}) determină devierea spre dreapta a curbei de disociere a oxihemoglobinei. Ea se materializează prin eliberarea mai activă a oxigenului de pe hemoglobină către țesuturi. Această stare se întîlnește în hiperfosfatemii, anemia din uremie, „anemia fiziologică a copilului", unele hemoglobinopatii (vezi pag. 147), acidoza acută, stressul sau efortul acut, hipertiroidism (30).

De un interes deosebit este devierea la dreapta a curbei de disociere a oxihemoglobinei în stările însoțite de hipoxie. Astfel, s-a constatat că expunerea la altitudini foarte mari duce la creșterea semnificativă a cantității de DPG eritrocitar. Aceasta ar duce la scăderea afinității pentru oxigen a hemoglobinei și la eliberarea mai activă a oxigenului spre țesuturi, ca mecanism compensator față de hipoxie. Cantitatea DPG intraeritrocitar scade la nivelul normal odată cu reîntoarcerea acestor subiecți la nivelul mării. În același sens, compensator, trebuie privită și devierea la dreapta a curbei de disociere a oxihemoglobinei din bronhopneumopatiile cronice și cardiopatiile congenitale ce evoluează cu hipoxemie, precum și în insuficiența cardiacă cu debit mic. *Creșterea DPG eritrocitar*, însoțită de devierea la dreapta a curbei de disociere a oxihemoglobinei și de activarea eliberării de oxigen spre țesuturi, *reprezintă primul din șirul de mecanisme compensatorii față de hipoxie*, cu mobilizare promptă (25, 30, 34).

S-a sugerat de asemenea că eliberarea deficitară a oxigenului de pe hemoglobină ar putea fi cauza ischemiei miocardice (cu angină pectorală și chiar cu infarct miocardic) la subiecți cu coronare angiografic normale (12, 13). Pe de altă parte, la 30% dintre subiecții cu angină pectorală (cu coronare normale sau nu), precum și la unii subiecți cu infarct miocardic acut, se constată devierea la dreapta a curbei de disociere a oxihemoglobinei, fenomen care ar putea avea un caracter compensator față de hipoxia miocardică (30).

Ideea că scăderea afinității pentru oxigen a hemoglobinei ar putea fi un element compensator al hipoxiei tisulare a dus la încercarea de a manipula farmacologic echilibrul dintre oxigen și hemoglobină. S-a constatat astfel că propranololul determină desprinderea DPG de pe membrana eritrocitară și, ca atare, cantitatea de DPG activ crescînd, ar crește și eliberarea oxigenului de pe hemoglobină (38). S-a estimat teoretic că deplasarea la dreapta, de către propranolol, a curbei de disociere a oxihemoglobinei ar putea crește cu aproximativ 20—30% oxigenarea zonelor miocardice aflate, datorită ischemiei, la limita oxigenării utile. S-ar părea deci că propranololul își exercită efectul antianginos și prin acest efect de mărire a disponibilității tisulare a oxigenului (30). Acetazolamida ar produce devierea

la dreapta a curbei de disociere a oxigenului de pe hemoglobină, prin inducerea acidozei metabolice, dar acidoza tisulară este greu de suportat iar utilitatea acestui drog în angina pectorală este discutabilă. Creşterea eliberării oxigenului poate fi obţinută şi prin administrarea unui amestec de inozină, piruvat şi fosfat anorganic (30).

Particularităţile disocierii oxihemoglobinei îşi găsesc aplicare şi în laboratorul clinic. Astfel, utilizarea oxihemoglobinei ca donator de oxigen şi, în acelaşi timp, ca indicator al respiraţiei, a permis elaborarea unei metode ingenioase, fine şi precise, de măsurare a schimbărilor respiratorii în cazul unor cantităţi mici de materiale biologice (obţinute prin puncţii-biopsie etc.) (8). Metoda se anunţă a avea o largă aplicabilitate practică.

PRINCIPALELE ANOMALII ALE HEMOGLOBINEI

Cantitatea hemoglobinei din sînge poate scădea concomitent cu numărul de eritrocite, ca urmare a desechilibrului între producerea şi distrugerea ori pierderea eritrocitelor, realizînd anemiile. Aceste aspecte nu vor fi discutate în acest capitol şi pot fi găsite în tratate de hematologie (40, 44). Ne vom limita doar la descrierea anomaliilor care interesează structura şi viteza de sinteză a hemoglobinei. Teoretic, anomaliile de structură a hemoglobinei ar putea fi împărţite în *anomalii afectînd predominant hemul*, ca de exemplu methemoglobinemiile, şi *anomalii afectînd predominant globina*, aşa cum sînt hemoglobinopatiile. În realitate, aşa cum se va vedea pe parcurs, există o strînsă interrelaţie între modificările globinei şi cele care afectează hemul.

Tablourile clinico-biologice determinate de modificările structurii hemoglobinei sau a ratei de sinteză a lanţurilor globinice sînt variate. Bolile în care structura hemoglobinelor este anormală, din cauză că înseşi genele structurale, care determină calitatea lanţurilor de globină, sînt anormale, poartă numele de *hemoglobinopatii* (de exemplu, anemia cu celule în formă de seceră). Alte boli, iniţiate de perturbarea genelor reglatoare, în care sinteza unor lanţuri globinice (şi deci a unor hemoglobine normale) scade, sînt denumite *talasemii*. Există însă variate combinaţii între hemoglobinopatii şi talasemii, determinate de coexistenţa defectului genelor structurale cu cel al genelor reglatoare. Anomaliile hemoglobinei pot, la rîndul lor, să fie secundare unor tulburări metabolice eritrocitare, ori acţiunii unor substanţe exogene (de exemplu unele methemoglobinemii). Pe de altă parte, anomaliile hemoglobinei se însoţesc de consecinţe variate. Acestea rezultă din tulburările

funcţiei de transportor de oxigen a hemoglobinei, din particularităţile fizico-chimice ale unor tipuri de hemoglobină, din anomaliile concomitente ale hemului şi anomaliile secundare ale stromei eritrocitare etc. Pentru a uşura înţelegerea unora dintre aceste aspecte, prezentăm în cele ce urmează, principalele anomalii ale hemoglobinei.

Depistarea şi clasificarea hemoglobinelor patologice

Este important de precizat faptul că substituirea unui singur aminoacid este capabilă să ducă la transformarea proprietăţilor hemoglobinei în asemenea măsură, încît să se poată vorbi de un alt tip de hemoglobină. La ora actuală, hemoglobinele patologice pot fi depistate prin metode variate (41, 44).

Separarea electroforetică poate identifica doar acele hemoglobine în care substituirea unui aminoacid duce la schimbarea sarcinii electrice a moleculei de hemoglobină şi implicit a vitezei de migrare în cîmpul electric. Electroforeza se poate face la un pH alcalin sau, în unele cazuri, la un pH acid fie pe hîrtie sau, de preferinţă, în gel de agar, amidon, poliacrilamidă sau folii de acetat de celuloză. Separări superioare se pot obţine prin electroforeză în gradient de pH (focalizare izoelectrică), cînd diferitele molecule proteice se imobilizează la punctul lor izoelectric.

Hemoglobina S se poate distinge prin testul de siclizare (vezi pag. 143), iar hemoglobina F (fetală) se recunoaşte printr-o creştere a rezistenţei la denaturarea prin alcalii sau prin metode histochimice pe frotiuri fixate. Aşa-zisele hemoglobine instabile precipită prin expunerea, pe timp de 1—2 ore, la temperatura de 50°C, iar prezenţa methemoglobinei se identifică spectroscopic.

Analiza peptidelor din hemoglobină a constituit o etapă importantă în studiul hemoglobinelor patologice. Prin tratarea hemoglobinei cu un amestec de uree, dodecilsulfat de sodiu, şi β-tioeritrol se desfac lanţurile α şi β, a căror greutate moleculară poate fi apoi estimată prin electroforeză în gel de poliacrilamidă. O analiză mai avansată a peptidelor implică o prealabilă digestie enzimatică astfel încît lanţurile α pot da naştere la 14, iar lanţurile β la 15 fragmente peptidice. Amestecul de fragmente peptidice este supus apoi la electroforeză cu voltaj înalt (într-unul din axe) şi la cromatografie (în celălalt ax), obţinîndu-se astfel o veritabilă „hartă a peptidelor" („peptide map" sau „fingerprints"). Dacă hemoglobina conţine un peptid anormal, acesta va ocupa o poziţie diferită de cea din „harta" normală. Analiza chimică a peptidelor permite elucidarea componenţei lor în aminoacizi, precum şi succesiunea acestora.

Studierea hemoglobinei prin cristalizare şi apoi prin metoda difracţiei razelor X a permis lui Perutz să descrie organizarea tridimensională a tetramerului de hemoglobină.

Clasificarea şi nomenclatura hemoglobinelor a evoluat paralel cu posibilităţile de cunoaştere a acestora. La început diferitele hemoglobine au fost notate cu majuscule: A, C, D, E, F, ... pînă la Q (litera S a fost utilizată pentru desemnarea hemoglobinei din anemia cu celule în formă de seceră (sickle-cell), care fusese notată la un moment dat şi cu litera B). Atunci cînd, prin înmulţirea hemoglobinelor anormale descoperite, literele alfabetului au devenit insuficiente, s-a trecut la denumirea hemoglobinelor nou identificate cu unele nume proprii (al primului pacient observat, al oraşului, ţării etc. unde a fost descrisă hemoglobina), de exemplu Hb Bucureşti (10). Cea mai corectă notare se bazează însă pe cunoaşterea structurii chimice şi implică menţionarea lanţului unde este localizată modificarea, a aminoacidului substituit şi a poziţiei în care s-a făcut substituirea. De exemplu, hemoglobina S conţine în lanţurile β, la poziţia 6, valină în loc de acid glutamic; ca atare, „formula" hemoglobinei S devine: $\alpha_2^A\beta_2^{6\,Glu\rightarrow val}$ sau mai simplu $\alpha_2^A\beta_2^{6\,val}$.

Clasificarea hemoglobinelor este foarte dificilă şi este adeseori bazată pe criterii diferite. O astfel de clasificare a fost propusă de Vîlcu în monografia „Eritrocitul" (41) iar o listă cu variantele de hemoglobină poate fi găsită în *Hematologia clinică* a lui Wintrobe (44).

Caracteristicile principalelor hemoglobine anormale

Numărul variantelor de hemoglobină anormale cunoscute pînă în prezent, deja ridicat, este în continuă creştere. Aşa de exemplu, în 1974, Wintrobe menţionează 79 de variante ale lanţurilor α, 126 de variante ale lanţurilor β, 7 variante γ şi 7 variante δ. La aceste variante, care rezultă din substituirea unui aminoacid cu altul, se adaugă alte 19 variante produse prin substituiri multiple, prin deleţii (lipse) ale unor aminoacizi sau prin adăugiri de aminoacizi în diverse lanţuri. În cele ce urmează ne limităm la prezentarea unor tipuri de hemoglobine patologice care ridică probleme în practica medicală (26, 41, 44).

Hemoglobina S produce anemia cu celule în formă de seceră (sickle-cell anemia). Chimic, se caracterizează prin înlocuirea acidului glutamic din poziţia 6 a lanţului β cu valină. Eritrocitele subiecţilor care suferă de această boală au forma normală în condiţiile unei oxigenări normale. Puse însă în condiţii de hipoxie severă, ele iau

forma alungită şi încurbată, de seceră (fenomenul de siclizare) (Fig. 9—13). Dacă presiunea oxigenului creşte în mediul în care se găsesc eritrocitele, acestea îşi pierd forma anormală şi revin la o formă apropiată de normal.

Hemoglobina S se moşteneşte dominant. În formele homozigote, se realizează forma gravă a bolii. Formele heterozigote, în care, pe lîngă hemoglobina S, este prezentă şi hemoglobina A (în proporţie de 20—40%), realizează forme mai uşoare, uneori simple stări de purtător al defectului („tară").

Aproape toate tulburările din anemia cu celule în formă de seceră pot fi explicate prin proprietăţile fizice ale hemoglobinei S reduse şi, în particular, prin solubilitatea sa joasă la presiuni scăzute de oxigen. Dezoxigenarea soluţiilor concentrate de HbS duce la formarea unui gel semisolid care este compus din tactoizi (bastonaşe), cu lungime de 1—12μ (similari ca formă cu eritrocitele siclizate). Tactoizii dispar cînd hemoglobina este reoxigenată.

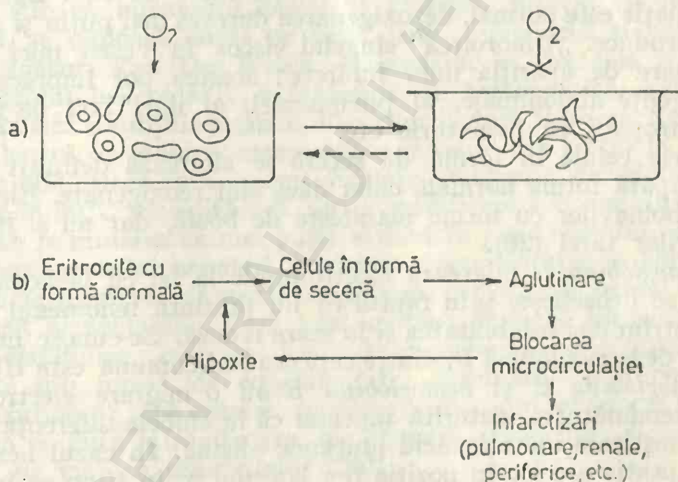


Fig. 9—13. a) Reprezentarea fenomenului de siclizare. În cazul scăderii marcate a presiunii oxigenului în mediul ambiant, eritrocitele purtătoare de hemoglobină S capătă forme bizare, de seceră. Dacă oxigenarea din mediul ambiant se normalizează, o parte dintre aceste eritrocite îşi recapătă forma normală.
b) La nivelul vaselor de calibru foarte mic, siclizarea determină apariţia unui cerc vicios; aglutinarea eritrocitelor încetineşte circulaţia, agravează hipoxia, ceea ce duce atît la accentuarea siclizării, cît şi la apariţia de infarcte.

Formarea tactoizilor duce la siclizarea eritrocitelor. Cu cît cantitatea de hemoglobină S redusă este mai mare, cu atît este mai pronunţată formarea de tactoizi şi deci de celule în formă de seceră. De aceea, pacienţii cu forme homozigote de boală (la care concentraţia hemoglobinei S este mai mare) fac forme mai severe de siclizare decît pacienţii care au doar tara hemoglobinopatiei S (la care concentraţia acestei hemoglobine este mai mică). Hematiile cu forma anormală sînt fagocitate de către celulele sistemului reticuloendotelial. Din acest motiv, eritrocitele în formă de seceră au durata de viaţă mai scurtă.

Anemia cu celule în formă de seceră este cea mai gravă dintre bolile produse de variantele hemoglobinei A. Aceasta deoarece, la elementul comun de hemoliză, se adaugă efectele directe ale siclizării. Aglutinarea celulelor anormale, vîscoase, duce la blocarea vaselor mici, creîndu-se un cerc vicios: dezoxigenarea se intensifică, iar forma celulelor devine din ce în ce mai anormală. Factorul timp este important la fenomenul de siclizare: aceasta din urmă se produce numai dacă dezoxigenarea durează mai mult de 15″. Dacă timpul de circulaţie este normal, dezoxigenarea durează mai puţin şi siclizarea nu se produce. „Înnoroirea" sîngelui vîscos în vasele mici este răspunzătoare de apariţia unor infarcte; acestea pot îmbrăca tabloul unor urgenţe abdominale, al pneumoniei, al unei boli de inimă, al unei nefropatii cu hematurie etc.

Unele celule în formă de seceră se alterează definitiv şi nu-şi mai recapătă forma normală chiar dacă sînt reoxigenate. Ele apar în sîngele bolnavilor cu forme manifeste de boală, dar nu şi în sîngele purtătorilor tarei (26).

Hemoglobina D migrează electroforetic la fel cu hemoglobina S, de care se deosebeşte prin faptul că nu prezintă fenomenul de siclizare, păstrîndu-şi solubilitatea şi în stare redusă. Se cunosc mai multe variante de hemoglobină D, dintre care cea mai comună este HbD_{Punjab}.

Hemoglobina C şi *hemoglobina E* au o migrare electroforetică foarte asemănătoare, datorită faptului că în ambele diferenţa de normal o constituie mutaţia acid glutamic→lizină. În cazul hemoglobinei C, mutaţia are loc în poziţia 6 a lanţului β, în timp ce în hemoglobina E, mutaţia se produce la poziţia 26 a aceluiaşi lanţ. Este un exemplu pentru faptul că aceeaşi substituţie poate produce variante diferite de hemoglobină în funcţie de poziţia unde substituţia are loc.

Starea de purtător al tarei pentru hemoglobinopatia C nu produce semne de boală. Formele homozigote au manifestare clinică. Se cunosc de asemenea forme de dublu heterozigoţi, pentru hemoglobinopatia C şi anemia cu celule în formă de seceră (HbSC), în care

gravitatea bolii este determinată de cantitatea hemoglobinei S. Există, de asemenea, dublu heterozigotism pentru hemoglobinele S şi E.

Hemoglobinele S, C, E şi o variantă de D sînt tipurile de hemoglobine anormale care apar la milioane de persoane care trăiesc în Africa şi Asia, fiind cele mai comune cauze de hemoglobinopatii. Celelalte tipuri de hemoglobine patologice, descrise în urma acestora, sînt cu mult mai rare.

Hemoglobinele instabile

Stabilitatea hemoglobinei depinde de interacţiunea a patru factori: plicaturarea optimă a lanţurilor de globină (care trebuie să aibă un conţinut helicoidal mare), legarea fermă a hemului de globină, dispunerea aminoacizilor nepolari în interiorul lanţurilor globinice şi stabilitatea contactelor largi ($\alpha_1\beta_1$) care ţin cele patru lanţuri globinice împreună (43)

Se ştie că buzunarul hemic al globinei, tapetat de aminoacizi nepolari, se mulează strîns pe hem. Între aminoacizi şi hem se formează legături Van Der Waals. Acestea duc la creşterea plicaturării („contactului helicoidal") în molecula de hemoglobină, care devine mai stabilă în condiţiile acţiunii diferiţilor factori, între care şi căldura. Astfel, lanţul de globină care conţine şi hem este stabil la temperatura de 50°. Dacă însă hemul lipseşte, lanţurile de globină libere încălzite la 50°C precipită net. Orice modificare a buzunarului hemic, care duce la mularea sa mai puţin strînsă în jurul hemului, sau substituirea aminoacizilor nepolari, favorizează accesul apei la hem. Aceasta duce la formarea de methemoglobină, care pierde hemul mult mai uşor decît hemoglobina. Fără hem, globina tinde să formeze proteine mixte disulfidice, care se leagă de membranele eritrocitare, unde precipită sub formă de conglomerate, denumite corpusculi Heinz. Aceşti corpusculi sînt extraşi, de către splină, din interiorul eritrocitelor, ceea ce duce la fragilizarea membranei eritrocitare şi la scăderea duratei de viaţă a eritrocitelor (26).

În producerea corpusculilor Heinz un rol important i se atribuie ionului superoxid, care ia naştere în timpul formării methemoglobinei. Fenomenul apare şi în eritrocitele normale, dar se produce în exces în cadrul hemoglobinelor instabile. Se ştie, astfel, că oxigenul legat de hemoglobină primeşte provizoriu un electron, de la atomul de fier, devenind superoxid. În cazul methemoglobinei, oxigenul nu mai retrocedează electronul „împrumutat", fierul methemoglobinic rămînînd ireversibil în stare trivalentă. Sub influenţa superoxiddismutazei,

ionul superoxid este legat sub formă de H_2O_2. În condiţii normale, cînd întreg procesul are loc în măsură redusă, H_2O_2 este transformată în H_2O de către glutationperoxidază. În cazul hemoglobinelor instabile însă, cantitatea de methemoglobină produsă este mare, ceea ce duce la apariţia unui exces de ion superoxid. Methemoglobina formată pierde hemul şi devine, pe rînd, hemicrom I (proces reversibil) şi hemicrom II (proces ireversibil). Ultimul este precipitat de către excesul de ion superoxid sub forma unui conglomerat proteic cu patru grupări SH (corpusculii Heinz). În acelaşi timp, ionul superoxid lezează direct membrana eritrocitară, prin oxidarea fosfolipidelor pe care aceasta le conţine (43).

Hemoglobinele instabile iau naştere prin alterarea mecanismelor ce conferă stabilitate hemoglobinei (la care ne-am referit mai sus). De la descrierea primei dintre aceste hemoglobine (Hb Köln), s-au descoperit peste 60 de variante (43).

Marea majoritate a hemoglobinelor instabile se produc prin apariţia unor mutaţii ce afectează buzunarul hemic. În HbZürich, histidina din β^{63} este înlocuită cu arginină. HbKöln are β^{98} valină→metionină, HbHammersmith are β^{42} fenilanină→serină etc. Pierderea unui număr de aminoacizi determină distorsionarea întregii molecule şi, ca o consecinţă, hemoglobinele devin instabile (de exemplu, Hb Freiburg, HbGun Hill, HbLeiden). Se ştie de asemenea că stabilitatea hemoglobinei este condiţionată de interacţiunea a două lanţuri α cu două lanţuri non α. Lanţurile α izolate devin instabile (de aceea, dealtfel, ele precipită în interiorul eritrocitelor bolnavilor cu β-talasemie)(vezi pag. 153). În talasemia α, precipită tetramerii lanţului β(HbH) sau γ (Hb Bart's). Slăbirea contactelor $\alpha_1\beta_1$ (Hb Philly) duce de asemenea la disocierea crescută a monomerilor şi la precipitarea lor (26, 43).

Hemoglobinele patologice instabile duc la apariţia unor anemii hemolitice congenitale. Severitatea anemiei depinde de gradul de instabilitate a h moglobinei şi, pe de altă parte, de rata sintezei acesteia. Mulţi bolnavi au doar o anemie hemolitică nesferocitară, accentuată de infecţii ori de droguri oxidative. Singurul semn clinic este anemia, dar şi manifestările acesteia pot fi atenuate din cauza afinităţii scăzute a hemoglobinei pentru oxigen, care duce la activarea eliberării oxigenului spre ţesuturi. Unii pacienţi prezintă anemie hemolitică severă. Pot coexista sulfhemoglobinemia şi methemoglobinemia. Cînd hemoliza este severă, ca de exemplu în cazul Hb Hammersmith, urina are culoare neagră. În cazuri uşoare (Hb Köln), pigmenturia este variabilă. Corpii Heinz apar numai la subiecţii splenectomizaţi.

Diagnosticul de anemie hemolitică prin hemoglobină instabilă se poate lua în discuţie în prezenţa unor anemii hemolitice nesferocitare. El se confirmă dacă o proporţie de hemoglobină precipită în urma expunerii fie la temperatura de 50°, timp de o oră, fie la tampon de izopropanol (43).

Hemoglobinele cu afinitate anormală faţă de oxigen

Afinitatea hemoglobinei faţă de oxigen devine anormală la unele hemoglobine care au structura anormală. Defectul de legare a oxigenului este numai unul dintre viciile acestor hemoglobine, între alte caracteristici patologice (îndeosebi instabilitate moleculară şi sporire a formării de methemoglobină).

Există aproximativ 24 de hemoglobine ale căror consecinţe pot fi atribuite afinităţii crescute faţă de oxigen (9). După cum s-a mai arătat, afinitatea hemoglobinei faţă de oxigen depinde de echilibrul dintre cele două forme alosterice: dezoxi şi oxi. În cazul hemoglobinelor cu afinitate crescută faţă de oxigen, s-ar produce o stabilizare a structurilor oxi şi scăderea stabilităţii structurilor dezoxi. În acest sens, se ştie astăzi că 11 dintre hemoglobinele cu afinitate crescută faţă de oxigen au substituţii de aminoacizi care afectează contactele $\alpha_1\beta_2$ ale tetramerului. Majoritatea celorlalte hemoglobine cu afinitate mare faţă de oxigen au substituţii la nivelul aminoacizilor C terminali ai lanţurilor β, care sînt incriminaţi în stabilitatea configuraţiei dezoxi. S-au descris de asemenea hemoglobine anormale care au substituţii de aminoacizi în locurile unde se leagă DPG, modificînd în acest fel afinitatea hemoglobinei faţă de oxigen. O altă variantă de hemoglobină, asociată cu poliglobulie, are alteraţii ale buzunarului hemic. În fine, la altă hemoglobină anormală, defectul interesează locul de contact $\alpha_1\beta_1$ (9).

Hemoglobinele anormale cu afinitate crescută faţă de oxigen eliberează oxigenul cu dificultate, determinînd astfel hipoxie tisulară; în consecinţă, ele induc frecvent policitemii secundare. Recunoaşterea acestor policitemii secundare hemoglobinelor anormale este importantă pentru a feri bolnavii de tratamente cu citostatice, radioizotopi ori emisii de sînge inutile şi dăunătoare (9).

Dintre *hemoglobinele anormale cu afinitate redusă faţă de oxigen* au fost descoperite pînă în prezent numai trei variante. Afinitatea acestora pentru oxigen poate fi atît de scăzută, încît chiar şi la presiuni normale de oxigen, hemoglobina rămîne redusă în cantitate aşa de mare încît generează cianoză (9).

Este imposibil să se facă o demarcaţie netă între hemoglobinele instabile şi cele cu afinitate modificată faţă de oxigen, deoarece multe mutaţii au efecte variate asupra structurii generale a tetramerului. Multe dintre hemoglobinele instabile, mai ales HbKöln, au afinitate crescută faţă de oxigen. HbHammersmith şi HbKansas, pe de altă parte, au afinitate faţă de oxigen scăzută (9). De regulă, toate hemoglobinele care au alteraţii în, sau lîngă contactele $\alpha_1\beta_2$ prezintă creşterea afinităţii faţă de oxigen (HbMalmö, HbChesapeake, HbCape Town, HbYakima, HbKempsey) (9).

Methemoglobinemiile

Am lăsat la sfîrşitul capitolului h moglobinelor anormale grupul methemoglobinemiilor, deoarece acesta se deosebeşte substanţial de tipurile descrise mai sus. În methemoglobinemii, principala anomalie este situată la nivelul hemului. Aceasta însă poate fi determinată fie de alterarea structurii globinei, fie de defectul sistemelor reducătoare eritrocitare, fie de acţiunea unor factori exogeni.

Relaţia dintre hemoglobină şi oxigen diferă în cazul methemoglobinei, faţă de cel al hemoglobinei. În oxihemoglobină, oxigenul este legat reversibil de fier şi este eliberat către ţesuturi îndată ce presiunea parţială a oxigenului scade. Methemoglobina însă nu poate elibera oxigenul, oricît de joasă ar fi presiunea parţială a acestuia în mediu. Numai o reacţie chimică poate desprinde oxigenul din methemoglobină, prin reducerea fierului (din feric în feros).

Cu privire la acest aspect, s-a considerat că în oxihemoglobină fierul rămîne feros, în timp ce în methemoglobină el ar fi feric. În realitate însă şi în methemoglobină şi în oxihemoglobină fierul este tot feric. În oxihemoglobină, unul dintre electronii fierului este donat provizoriu oxigenului şi este reprimit în momentul în care oxigenul este eliberat spre ţesuturi. În dezoxihemoglobină, fierul este deci bivalent. În cazul methemoglobinei, revenirea fierului la starea bivalentă nu se mai produce. Methemoglobina nu mai poate deveni oxihemoglobină; fierul este stabilizat în starea trivalentă, iar locul oxigenului legat labil este luat de gruparea OH legată puternic de fier (20, 26, 43).

În eritrocitul normal, methemoglobina se formează în mod continuu, dar lent, deoarece buzunarul hemic hidrofobic protejează fierul de acţiunea apei. Mecanismele reducătoare care retransformă methemoglobina în hemoglobină sînt puternice. Din această cauză, rata reducerii methemoglobinei este mai mare decît rata oxidării hemo-

globinei. În consecință, deși methemoglobina se produce în proporție de 3% din totalul hemoglobinei, ea reprezintă în final abia 0,5% din cantitatea totală de hemoglobină (44).

Procesul normal de reducere a methemoglobinei este îndeplinit în special sub acțiunea unei enzime dependente de NADH (NADH-methemoglobinreductaza). Methemoglobina poate fi redusă și de o reductază dependentă de NADPH. În acest caz, este nevoie însă de un transportor intermediar al hidrogenului de pe NADPH pe methemoglobină (de exemplu albastrul de metilen) și de o dehidrogenază care să treacă hidrogenul de pe NADPH pe această substanță reducătoare; această cale de reducere a methemoglobinei este utilizată în unele tipuri de methemoglobinemii ca tratament. Este de remarcat însă că, în condiții obișnuite, în absența substanței reducătoare, interacțiunea între NADPH și methemoglobină este neglijabilă. Methemoglobina poate fi redusă în mod direct și de către acidul ascorbic și de către glutation, dar rata acestor reacții este mică (20, 44).

Apariția în sînge a unor cantități patologic de mari de methemoglobină poartă numele de methemoglobinemie. Aceasta poate fi ori ereditară, ori dobîndită (ca urmare a acțiunii unor substanțe chimice oxidante).

Methemoglobinemiile ereditare pot fi împărțite în două categorii. În prima, globina este anormală și nu mai dispune de buzunarul hemic hidrofobic îngust, în care fierul este protejat împotriva oxidării. Apa pătrunde în buzunarul hemic anormal și stabilizează fierul în forma trivalentă (Fig. 9.14). În a doua categorie, methemoglobina, care se produce în mod normal în eritrocit, încetează să mai fie redusă, din cauza unor deficiențe enzimatice.

Hemoglobina anormală, care determină methemoglobinemie din cauza anomaliei lanțurilor de globină, a fost denumită hemoglobină M. Cu privire la acest tip de hemoglobină, trebuie reamintit faptul că histidinele E7 sînt dispuse în buzunarul hemic distal față de atomul de fier, adică nu sînt legate chimic de acesta. Histidinele F8 sînt legate de fierul hemic și sînt denumite histidine proximale. Toate cele patru histidine, adică două E7 și două F8, pot fi înlocuite de tirozină. Fiecare dintre aceste înlocuiri duce la apariția unui anumit tip de hemoglobină M. Grupul fenolic al tirozinei, care înlocuiește histidinele amintite, formează o legătură ionică cu atomul de fier și îl stabilizează în forma trivalentă, ferică. Cele patru hemoglobine M, în care tirozina înlocuiește histidina din diferite poziții, au proprietăți diferite, după cum înlocuirea se produce în lanțurile α sau β. Cele două variante cu substituiri la lanțurile β ($HbM_{Saskatoon}$ și $HbM_{Hyde\ park}$) au afinitate față de oxigen comparabilă cu cea a

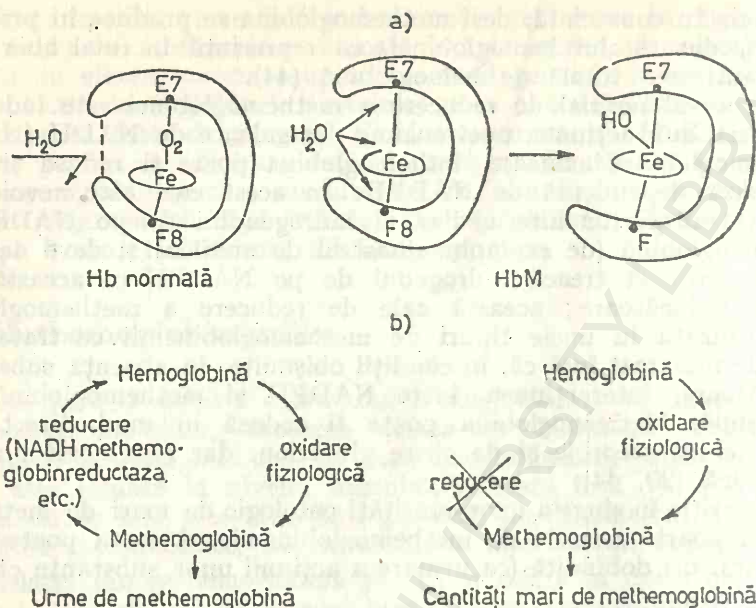


Fig. 9—14. a) La hemoglobina normală, buzunarul hemic este tapetat cu aminoacizi hidrofobi, motiv pentru care apa nu poate pătrunde în el; fierul rămîne bivalent și leagă reversibil oxigenul. În cazul hemoglobinei M, buzunarul hemic devine permeabil pentru apă; fierul se oxidează ireversibil iar oxigenul nu mai poate fi eliberat spre țesuturi; b) Methemoglobina, produsă în mod normal prin oxidarea unei mici cantități de hemoglobină, este redusă în cea mai mare măsură, prin intervenția unor enzime dependente de NADH, NADPH, a acidului ascorbic și glutationului. În cazul insuficienței mecanismelor reducătoare, methemoglobina se acumulează în eritrocite în cantități patologice. Numai deficitul de NADH-methemoglobinreductază determină însă methemoglobinemie manifestă.

hemoglobinei A și dezvoltă efect Bohr, în timp ce variantele cu substituiri la nivelul lanțurilor α(HbM_{Boston} și HbM_{Iwate}) au afinitate anormal de joasă față de oxigen și prezintă o scădere marcată a efectului Bohr. În afară de aceste patru variante de hemoglobină M, există și o a cincea, $HbM_{Milwaukee}$, care ia naștere prin substituirea valinei din E11 (α și β67) prin acid glutamic. În acest tip de hemoglobină, defectul constă în aceea că un lanț lateral al acidului glutamic împinge lanțul lateral al histidinei din E7 (β63) afară din buzunarul hemic și formează cu fierul o punte salină. Ca și în

cazul celorlalte hemoglobine M, fierul se stabilizează în forma trivalentă (26, 41).

Methemoglobinemiile cu hemoglobină M sînt moştenite dominant şi sînt rezistente la tratamentul cu albastru de metilen. Dimpotrivă, methemoglobinemia datorată activităţii reducătoare deficitare se moşteneşte recesiv şi răspunde la tratamentul cu albastru de metilen.

În categoria a doua de methemoglobinemii se includ defectele mecanismelor care în mod normal determină reducerea methemoglobinei formate continuu în eritrocite. S-au observat deficite, atît ereditare cît şi dobîndite, ale fiecăruia dintre mecanismele reducătoare ale methemoglobinei. Methemoglobinemia boală se produce însă numai în cazul deficienţei de NADH-methemoglobinreductază (20).

În eritrocitele bolnavilor cu deficit de NADH-methemoglobinreductază, methemoglobina se acumulează în cantitate mai mare decît în mod normal. Ea se acumulează în cantitate mai mare în eritrocitele mai bătrîne; fenomenul pare să se datoreze faptului că în eritrocitele bătrîne ar exista concomitent o scădere a regenerării glutationului şi ca atare ar diminua încă un mecanism reducător al methemoglobinei (20).

Clinic, bolnavii cu deficit de NADH-methemoglobinreductază au cianoză variabilă (de la o intensitate abia observabilă la una profundă). Aceasta, prin faptul că apare încă de la naştere, ridică problema diferenţierii faţă de cianozele de cauză pulmonară sau cardiacă. Proporţia methemoglobinei este variabilă de la pacient la pacient. De obicei, ea atinge 15—30%, dar poate ajunge ocazional şi la 45% din cantitatea totală de hemoglobină. Pacienţii se plîng de uşoară oboseală şi dispnee la efort, simptome care, surprinzător, sînt puţin influenţate de tratamentele care scad nivelul methemoglobinei circulante. Deficitul de NADH-methemoglobinreductază se asociază frecvent cu retardare mintală (20).

Natura şi intensitatea mecanismelor compensatoare declanşate de prezenţa methemoglobinemiei sînt puţin cunoscute. Unii pacienţi au policitemie moderată. Datele referitoare la aspectul curbei de disociere a oxihemoglobinei la aceşti pacienţi sînt contradictorii (20).

Administrarea de albastru de metilen şi de acid ascorbic scade cantitatea de methemoglobină la pacienţii cu deficit de NADH-methemoglobinreductază. Se pare că acidul ascorbic reduce methemoglobina în mod direct şi poate fi regenerat de către glutationul redus. După încetarea tratamentului cu albastru de metilen, methemoglobina se reacumulează treptat, în proporţie de 2—3% la zi, în aşa fel încît nivelul dinaintea tratamentului este atins în aproximativ 10—14 zile (20).

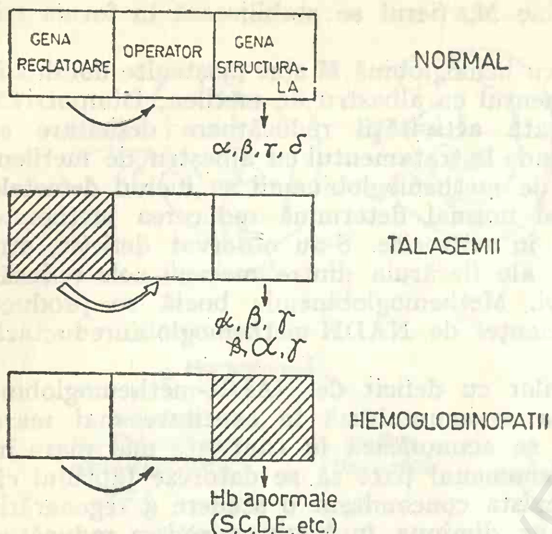


Fig. 9—15. Reprezentare schematică a diferenţei dintre mecanismele producătoare ale talasemiilor şi hemoglobinopatiilor. În talasemii, defectul se găseşte la nivelul genelor reglatoare, care determină cantitatea lanţurilor de globină sintetizate. Consecinţa acestui defect este scăderea sintezei unor anumite lanţuri de globină, pînă la anulare. Lanţurile de globină care se sintetizează, în talasemii, sînt normale, dar dezechilibrul lor cantitativ duce la apariţia unor serii de manifestări patologice. În hemoglobinopatii, defectul se găseşte la nivelul genelor structurale, care determină calitatea lanţurilor de globină. De aceea, lanţurilor de globină sintetizate în baza informaţiei conţinute în genele structurale anormale au structură anormală. Manifestările patologice din hemoglobinopatii sînt iniţiate de caracteristicile hemoglobinelor anormale.

Prezenţa methemoglobinemiei trebuie diferenţiată de bolile pulmonare şi de cardiopatiile congenitale. Existenţa sa este sugerată de prezenţa culorii brune şocolatii a sîngelui, chiar şi după oxigenarea intensă a acestuia. Confirmarea methemoglobinemiei este spectroscopică, banda de absorbţie a methemoglobinei avînd un maximum la 620 nm. Diferenţierea methemoglobinemiei prin deficit enzimatic de cea prin hemoglobină M se face prin adăugarea de albastru de metilen la sîngele integral; aceasta nu corectează methemoglobinemia în cazul hemoglobinei M (20, 41, 44).

Pe lîngă methemoglobinemiile ereditare, există o categorie de *methemoglobinemii dobîndite*. Agenţii cauzali ai acestora pot fi reprezentaţi de:

nitriţi ori alţi oxidanţi direcţi: agenţi terapeutici (nitrit de amil, nitroglicerină, nitrit de sodiu, subnitrat de bismut, nitrat de amoniu, nitrat de argint, chinone), agenţi chimici întrebuinţaţi în scopuri domestice ori industriale (alimente tratate cu nitraţi, clorat de potasiu, gaze nitroase etc.);

oxidanţi indirecţi, compuşi aromatici amino şi nitro: agenţi terapeutici (sulfanilamidă, prontozil, sulfatiazol, sulfapiridină, fenacetină, acetanilidă, benzocaină, fenilendiamină, rezorcină, trinitrotoluen etc.) şi cloranţi industriali de anilină (44).

Toate hemoglobinele anormale despre care s-a vorbit pot produce grade variate de boală. Bolile produse de aceste hemoglobine anormale se pot numi, pe drept cuvînt, hemoglobinopatii (Fig. 9.15). Între hemoglobinopatii se pot încadra, în consecință, anemia cu celule în formă de seceră, bolile produse de hemoglobinele C, D, E etc.

În afară de aceste boli, se întîlnesc însă unele stări în care lanțurile de globină sînt structural normale, dar sînt sintetizate în cantități anormale. Anomalia este, în aceste cazuri, nu la nivelul genelor structurale, ci la nivelul genelor reglatoare ale ratei sintezei lanțurilor de globină (Fig. 9.15). Defectul acestor gene determină scăderea sau lipsa sintezei unor lanțuri și producerea altora în exces. Grupul bolilor derivate din acest tip de defecte poartă numele convențional de talasemii, după denumirea primeia dintre bolile descrise în această categorie (26, 44).

Deoarece hemoglobinopatiile și talasemiile apar frecvent în aceleași zone geografice, existența unor variate combinații genetice poate determina coexistența, la același pacient, a unor hemoglobinopatii și a unor forme de talasemie.

Talasemiile

Bolile care rezultă din tulburarea genetică a vitezei de sinteză a globinei poartă numele de talasemii. Numele vine de la prima formă de boală de acest tip descrisă de Cooley și Lee, în anul 1925, pe țărmul Mării Mediterane (thalassa = mare). Diferitele tipuri genetice de talasemii și combinațiile lor cu genele pentru hemoglobinele anormale produc o serie complexă de stări patologice cunoscute sub termenul de sindroame talasemice (42).

Există două tipuri principale de talasemii, după felul lanțurilor de globină care sînt sintetizate defectuos. Dacă lanțurile α sînt cele sintetizate în cantitate mai mică, se vorbește despre α-talasemii. Dacă lanțurile β se sintetizează într-o cantitate mai redusă, este vorba despre β-talasemii.

În afară de acestea, există stări asemănătoare cu talasemia, care rezultă din anomalii ale complexelor de gene $\beta\delta$, care determină reducerea ratei de sinteză a lanțurilor corespunzătoare. Această perturbare duce la apariția unui lanț compozit $\delta\beta$ sau $\beta\delta$. În fine, există stări patologice caracterizate prin sinteza scăzută de lanțuri δ sau γ.

β-talasemiile cuprind două mari varietăți: β talasemia$^+$ și β-talasemia^0, în care producția de lanțuri β este deficitară sau, respec-

tiv, absentă (42). În acest grup se încadrează şi stările produse de sinteza defectuoasă a lanţurilor β şi δ (aşa zisele δβ-talasemii), precum şi heterozigotismul pentru una dintre aceste forme de β-talasemie iş hemoglobinopatii derivate din anomalii ale lanţurilor α sau β.

Talasemia adevărată („major") se prezintă clinic sub forma anemiei descrisă de Cooley. Pacienţii prezintă anemie severă, tulburări de creştere, tulburări osoase (craniu în formă de turn, proeminenţa malarelor etc.), susceptibilitate faţă de infecţii, hepatomegalie şi splenomegalie marcată, uneori cu fenomene de hipersplenism. Hematologic, se constată scăderea cantităţii de hemoglobină (uneori pînă la o cantitate de 2—3 g%), anizopoikilocitoză marcată, hipocromie, prezenţa unui procent ridicat de reticulocite şi, pe de altă parte, de eritrocite în formă de semn de tras la ţintă. Frecvent, în sîngele periferic apar celule roşii nucleate. Se constată creşterea cantităţii de hemoglobină F (în proporţie variabilă, de la 10 la 90%). Testul de eluţie cu acizi arată că hemoglobina F este neuniform repartizată în eritrocite. Cantitatea hemoglobinei A este variabilă. În forma de talasemie caracterizată prin oprirea completă a sintezei hemoglobinei A, se utilizează termenul de β^0talasemie (42, 44).

β-talasemia heterozigotică are manifestări clinice variabile, mici (talasemia minor), minime (talasemia minima) sau absente (starea de purtător al defectului). În β-talasemia minor, cantitatea de hemoglobină A_2 creşte la 3,5—8%. Hemoglobina F creşte la 1—3%, rareori peste 5% din întreaga cantitate de hemoglobină.

δβ-talasemia (talasemia F) rezultă din absenţa completă a lanţurilor δ şi β şi implicit a hemoglobinelor A şi A_2. Pacienţii au numai hemoglobină F. Forma homozigotă este rară. În forma heterozigotă se realizează un tablou asemănător talasemiei minor. Boala se deosebeşte de persistenţa ereditară a hemoglobinei F prin distribuirea inegală a hemoglobinei F în eritrocite.

Boala hemoglobinei Lepore este un tip particular de talasemie δβ, în care lanţurile α normale apar alături de nişte lanţuri compozite („pestriţe"), alcătuite din capătul N terminal al lanţului δ fuzionat cu capătul C terminal al lanţului β. Această fuziune este posibilă pentru că genele structurale ale lanţului β şi lanţului δ se află una în continuarea celeilalte, pe acelaşi cromozom. Rata sintezei acestui lanţ compozit este mică. De aceea eritrocitele sînt mai slab hemoglobinizate şi ia naştere un tablou asemănător talasemiei (42). S-au descris şi fuziuni inverse, δβ (anti-Lepore) şi γβ (41, 44).

Persistenţa ereditară a hemoglobinei F seamănă cu δβ talasemia prin aceea că sinteza lanţurilor δ şi β este complet suprimată. Forma heterozigotă a defectului poate simula δβ-talasemia; în caz de per-

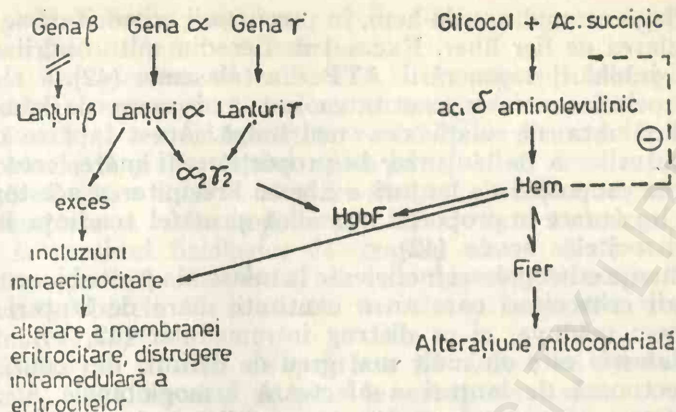


Fig. 9–16. Reprezentare schematică a perturbărilor din talasemiile β. În absența lanțurilor β, se realizează un exces de lanțuri α. Lanțurile α în exces formează incluziuni intraeritrocitare, care duc în cele din urmă la alterarea membranei eritrocitare și la distrugerea eritrocitelor. Hemul excedentar, care nu este legat de către hemoglobina F, produce, prin mecanism de feedback, scăderea sintezei hemului (după Weatherall).

sistență a hemoglobinei F, aceasta din urmă este repartizată în eritrocite în mod uniform (42).

Dintre β-*talasemiile asociate cu variante* β-*structurale* de importanță mai mare sînt combinațiile talasemie-siclemie, talasemie-hemoglobinopatie C și talasemie-hemoglobinopatie E.

În tipurile de talasemii descrise mai sus, sinteza lanțurilor β și/sau δ este deficitară. Lanțurile α în exces se acumulează și, deoarece lanțurile libere sînt instabile, se precipită pe stroma eritrocitelor, de care se leagă, formînd incluziuni intraeritrocitare. Legarea lanțurilor α de grupările sulfhidrilice din membrana eritrocitară determină creșterea permeabilității acesteia. Incluziunile intraeritrocitare sînt extrase de către splină, fapt care duce de asemenea la alterarea permeabilității membranei eritrocitare (42).

S-a demonstrat de asemenea că în β-talasemii, sinteza hemului este deficitară. Astfel, ca urmare a sintezei deficitare a lanțurilor de globină, numeroase grupări de hem rămîn libere. Prin mecanism de feedback, hemul „în exces" inhibă sinteza de acid δ-aminolevulinic și, în consecință, de hem. O parte din hem se leagă de lanțurile α libere și se degradează, în interiorul precursorilor eritrocitari, determinînd excesul de dipiroli urinari care se constată în talasemie (42) (Fig. 9.16).

Pe lîngă acumularea de hem, în precursorii eritrocitari se observă şi acumularea de fier liber. Excesul de fier din mitocondrii ar putea fi cauza inhibării regenerării ATP din talasemie (42).

Eritrocitele care au cantitatea cea mai mare de hemoglobină F au şi durata de viaţă cea mai lungă. Acest fapt se datoreşte legării lanţurilor α de lanţuri γ în proporţie mai mare, ceea ce duce la scăderea proporţiei de lanţuri α libere. Precipitarea acestor lanţuri în eritrocite se face în proporţie mai mică şi astfel tendinţa la fragilizarea eritrocitelor scade (42).

Existenţa eritropoiezei ineficiente în talasemia β este binecunoscută. Precursorii eritrocitari care au o cantitate mare de lanţuri α libere nu părăsesc măduva, ci se distrug intramedular (42, 44).

α-talasemia este cu mult mai greu de definit, din cauză că sinteza defectuoasă de lanţuri α afectează hemoglobinele A, F şi A_2. De aceea nu ne putem aştepta la modificări ale proporţiei dintre aceste hemoglobine. Mai mult, se pare că deficienţa totală de producere a lanţurilor α pe un cromozom poate fi compensată cu mai multă uşurinţă decît defectul similar pentru lanţurile β. Aceasta se explică prin faptul că genele pentru sinteza lanţurilor α sînt reduplicate, iar cele pentru lanţurile β nu sînt. De aceea, starea heterozigotă a α-talasemiei este foarte greu de identificat (42, 44).

În timpul trecerii de la sinteza hemoglobinei fetale la sinteza de hemoglobină adultă, există o perioadă în care lanţurile γ şi β intră în competiţie pentru a se lega de lanţurile α. În timpul acestei perioade, se produce o uşoară dezechilibrare a producerii de lanţuri chiar şi la copii normali, ceea ce duce la apariţia unor mici cantităţi suplimentare de lanţuri γ libere. Acestea se unesc pentru a forma urme de hemoglobină Bart's (γ_4). Nivelul hemoglobinei Bart's nu depăşeşte, la noii născuţi, niciodată, nivelul de 1% din cantitatea totală de hemoglobină. Dacă există o uşoară deficienţă de producere a lanţurilor α, în comparaţie cu producerea lanţurilor β şi γ, hemoglobina care se produce este mai degrabă A decît F, deoarece lanţurile α sînt mai avide de lanţuri β decît de lanţuri γ. Din acest motiv, cantitatea de hemoglobină Bart's este un ghid general pentru prezenţa unei gene de α-talasemie (42).

Nivelul *hemoglobinei Bart's* determină mai multe tipuri de α-talasemii. Noii născuţi cu 5—15% hemoglobină Bart's au un tablou sanguin uşor talasemic; hemoglobina Bart's dispare pe măsură ce copiii cresc. Această formă de boală, denumită α-talasemia$_1$, produce, în varianta homozigotă, sindromul hidropsului fetal cu hemoglobină Bart's; în aceasta, hemoglobinele A şi F lipsesc, constatîndu-se hemoglobină Bart's şi o cantitate mică de hemoglobină Portland 1. Dacă hemoglobina Bart's atinge doar 1—2% din cantitatea totală

de hemoglobină, boala poartă numele de α-talasemie$_2$; ea este expresia unei gene „tăcute" de α-talasemie.

Boala hemoglobinei H evoluează cu coexistenţa hemoglobinei A (reprezentînd componentul major), a unei mici cantităţi de hemoglobină Bart's şi a unei cantităţi variabile de hemoglobină H (β_4). Hemoglobinele H şi Bart's sînt unice în felul lor, deoarece migrează la pH 6,5—7 către anod şi ca atare sînt uşor de identificat. Curbele lor de disociere a oxihemoglobinei sînt deviate la stînga, ceea ce face ca, la presiuni fiziologice de oxigen, acesta să nu se elibereze de pe hemoglobină. Mai mult, ele nu dezvoltă fenomen Bohr. Ca atare, hemoglobinele H şi Bart's nu sînt utile pentru transportul oxigenului (41, 42).

S-au descris şi stări de purtător al defectului α-talasemie$_1$ şi α-talasemie$_2$. α-talasemiile se pot de asemenea asocia cu variante patologice ale hemoglobinelor prin defect al lanţurilor α(HbQ, HbI, Hb Constant Spring), ori cu variante structurale β ale hemoglobinelor (anemia cu celule în formă de seceră) (42).

În α-talasemii s-a confirmat deficitul complex de sinteză a lanţurilor α. Multe dintre lanţurile β care rămîn în exces formează hemoglobina H. O parte dintre lanţurile β rămîn într-un rezervor (pool) liber, capabil să se combine cu lanţurile α pe măsură ce acestea se sintetizează. Hb H este distrusă preferenţial în circulaţie. Ea este precipitată şi îndepărtată din eritrocite pe măsură ce acestea îmbătrînesc. Probabil că precipitatele formează corpusculi Heinz, care sînt îndepărtaţi de către splină. Ca şi în β-talasemie, în α-talasemii se produce o creştere a permeabilităţii membranelor eritrocitare şi o scădere a regenerării ATP. Mecanismul distrugerii eritrocitelor este probabil acelaşi în ambele tipuri de talasemie. Modificările membranei ar fi îndeosebi rezultatul precipitării lanţurilor β aflate în exces. Diferenţa de severitate dintre cele două forme de talasemie se poate datora, cel puţin în parte, stabilităţii relativ mai mari a hemoglobinei H în comparaţie cu lanţurile α libere produse în β-talasemie (42).

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. BACIU, I., *La régulation nerveuse et humorale de l'érythropoïèse*, J. Physiol. (Paris), 54, 3, 1962, 441.
2. BACIU, I., *Die humorale und nervöse Regelung der Erythropoese*, Klin. Wschr., 48, 1970, 133.
2. b. BACIU, I., DOROFTEIU, M., OLTEANU, A., DANIELLO, RODICA, *Biogeneza eritropoietinei. Nota II. Mecanisme enzimatice extrarenale*, Fiziol. Norm. Patol., 9, 1973, 127.
3. BACIU, I., OPRIŞIU, C., DOROFTEIU, M., ROSENFELD, EVA., RUSU, M., CHEREBEŢIU, C., *Le rein et la production de l'érythropoïétine*, J. Physiol. (Paris) 55, 1963, 551.
4. BACIU, I., ROSENFELD, EVA, DOROFTEIU, M., *Despre stimularea eritropoiezei prin hipoxie. Nota II. Fracţiunile proteice în cursul reacţiei eritrocitare*, Fiziol. Norm. Patol., 2, 1958, 115.
5. BACIU, I., ROSENFELD, EVA, DOROFTEIU, M., *Stimularea eritropoiezei prin hipoxie. Nota III. Izolarea şi proprietăţile biologice ale unui factor proteic de stimulare a eritropoiezei*, Stud. Cerc. Med. (Cluj), 1, 1959, 47.
6. BACIU, I., SECĂREANU, ST., VASILE, V., POPA, L., *Purificarea cromatografică a eritropoietinei*, Clujul medical, 3, 1964, 118.
6. a. BACIU, I., *La regulation de l'érythropoïèse*, Arch. Union Med. Balkanique, 15, 1977, 12.
7. BALDWIN, J. M., *A model of cooperative oxygen-binding to haemoglobin*, Brit. Med. Bull., 32, 3, 1976, 213.
8. BÂRZU, O., BORZA, V., *Spectrophotometric method for assay of mitochondrial oxygen uptake using oxyhemoglobin as indicator and oxygen donor, I.*, Ann. Biochem., 1967, 21, 344.
9. BELLINGHAM, A. J., *Haemoglobins with altered oxygen affinity*, Brit. Med. Bull., 32, 3, 1976, 234.
10. BRATU, V., LORKIN, P., LEHMAN, H., PREDESCU, C., *Haemoglobin Bucureşti β_{42} (CD1) Phe → Le, Cause of Instable Haemoglobin Haemolytic Anemia*, Biochem. Biophys. Acta, 1971, 251, 1.
11. DOROFTEIU, M., OLTEANU, A., PAVEL,T., *Cercetări asupra factorului inhibitor al eritropoiezei*, în *Polipeptide endogene biologic active*, Ed. Min. Inv., IMF Cluj, 1970, 49.

12. ELIOT, R. S., BRATT., *The paradox of myocardial ischaemia and necrosis in young women with normal coronary arteriograms,* Amer. J. Cardiol., 23, 1969, 633.
13. ELIOT, R. S., MIZUKAMI, H., *Oxygen affinity of haemoglobin in patients with acute myocardial infarction and in smokers,* Circulation, 34, 1966, 331.
14. FISHER, W. J., *The structure and physiology of erythropoietin,* În *The biological basis of medicine,* Edited by Bittar N., Academic Press, London and New York, 1968, 41.
15. GOLWASSER, E., KUNG, C.H., *Progress in purification of erythropoietin,* Ann. N. Y. Acad. Sci., 149, 1, 1968, 49.
16. GORDON, A. S., WINKERT, J., DORNFEST, B. S., SIEGEL, C. D., *Studies on the actions and properties of the circulation erythropoietic stimulating factor,* Ann. N. Y. Acad. Sci, 77, 1959, 650.
17. GORDON, A. S., ZANJANI, E. D., *Mechanisms of erythropoietin production,* Israel J. Med. Sci., 7, 1971, 963.
18. HĂRĂGUŞ, Ş., OLINIC, N., RACOVIŢA, LAURENŢIA., *Variaţiuni cantitative ale seriei eritrocitare în funcţie de hipoxie în evoluţia cordului pulmonar cronic,* Med. Int., XXV, 1, 1973, 61.
19. HĂRĂGUŞ, Ş., OLINIC, N., *Hipoxia şi cordul pulmonar,* Clujul Medical, XLVII, 1973, 708.
20. KEITT, A. S., *Inherited methaemoglobinemia with NADH-methaemoglobinreductase defficiency,* în *The metabolic basis of inherited disease,* sub red. Stanbury, J. B., Wingaarden, J. B., Frederickson, D.S., III-d ed. Ed. McGrawx Hill Book Comp., 1972, 1389.
21. KILLMARTIN, J. V., *Interactions of haemoglobin with protons, CO_2 and 2,3 Diphosphoglycerate,* Brit. Med. Bull, 32, 3, 1976, 209.
22. KRAUS, L. M., IWA, IUKI, KRAUS, B. T., *Effect of erythropoietin upon hemoglobin byosynthesis,* Ann. N. Y. Acad. Sci., 149, 1968, 423.
23. KRZYMOWSKY, T., KRZYMOWSKA, H., *Studies on erythropoiesis inhibiting factor in plasma of animals with transfusion polycythemia,* Blood, 19, 1962, 38.
24. KUNG, C. H., MIYAKE, T., GOLDWASSER, E., *Chicago Scientists Have Purified Erythropoietin.* New and Features from NIH. Recent advances, May, 1977, 9.
25. LEFANT, C., TORRANCE, J., ENGLISH, E., FINCH, C. A., REYNAFARJE, D., RAMOS, I., FAURA, J., *Effect of altitude on oxygen binding by haemoglobin and on organic phosphate levels,* J. Clin. Invest., 47, 1968, 2652.
26. LEHMAN, H., HUNTSMANN, R. G., *The hemoglobinopaties,* în *The metabolic basis of inherited disease,* sub red. Stanbury, J. B., Wingaarden, J. B., Frederickson, D. S., III-d ed., Mc Graw Hill Book Comp., 1972, 1399.
27. LEWIS, J. P., NEAL, W. A., MOORES, R. R., GARDNER, E. K., ALFORD, D. A., SMITH, L. L., WRIGHT, C. S., WELCH, E.J., *A protein inhibitor of erythropoiesis,* J. Lab. Clin. Med., 74, 4, 1969, 608.
28. LINDEMAN, R., *Erythropoiesis inhibiting factor in urine,* Israel J. Med. Sci., 7, 1971, 861.

29. MAZUR, A., HARROW, B., *Textbook of biochemistry*, W. B. Saunders Comp., Phil. Lond. Toronto, 1971, 525.
30. NEVINS, M. A., *Oxygen Hemoglobin Equilibrium in Ischaemic Heart Disease*, J.A. M.A., 229, 7, 1974, 804.
31. OLINIC, N., OPINCARU, A., *Dinamica modificărilor seriei eritrocitare în cordul pulmonar cronic*, Clujul Medical, XLIV, 4, 1971, 807.
32. OLINIC, N., OLTEANU, A., BANEA, M., PRODAN, T., DOROFTEIU, M., *Comportamentul factorilor umorali de reglare a eritropoiezei în evoluția cordului pulmonar cronic*, Doc. Haemat., 1, 1972, 49.
33. OLINIC, N., PAVEL, T., PAVEL, O., *Modificări ale metabolismului fierului în cordul pulmonar cronic de cauză respiratorie*, Clujul Medical, 1, 1974, 52.
34. OSKI, F. A., GOTLIEB, A. J., PAPADOPOULOS, DELIVORIA M., MILIER, W., *Red Cell 2,3, Dyphosphoglycerate Levels in Subjects with Chronic Hypoxemia*, New. Engl. J. Med., 208, 21, 1969, 1165.
35. PAUL, J., *Haemoglobin synthesis during human fetal development*, Brit. Med. Bull., 32, 3, 1976, 277.
36. PERUTZ, J. F., *Structure and mechanism of hemoglobin*, Brit. Med. Bull., 32, 3, 1976, 195.
37. REYNAFARJE, C., RAMOS, J., FAURA, H., VILLAVICENCIO, D., *Humoral control of erythropoietic activity in man during and after exposure to altitude*, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 116, 1964, 649.
38. SCHRUMPF, D. J. et al., *Effects of propranolol on hemoglobinoxygen affinity in the anginal syndrome*, Amer. J. Cardiol., 33, 1974, 170 (abstract).
39. SEIP, M., *Erythropoietic inhibiting factor (EIF)-an erytrocytic chalone?*, Ann. Clin. Res., 3, 1971, 3.
40. TĂNĂSESCU, R., *Diagnosticul hematologic*, Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1974.
41. VÎLCU, A., *Eritrocitul*, Ed. med. București, 1977.
42. WEATHERALL, D.J., *The Thalassemias*, în *The metabolic basis of inherited disease*, sub red. Stanbury, J. B., Wingaarden, J. B., Frederickson, D. S., III-d ed., Mc Graw Hill Book Comp., 1972.
43. WHITE, J. M., *The unstable haemoglobins*, Brit. Med. Bull., 32, 3, 1976, 219.
44. WINTROBE, M. M., *Clinical Haematology*, Ed. Lea and Febiger, Phil,. 1974.
45. WOOD, W. G., *Haemoglobin synthesis during human fetal development.*, Brit. Med. Bull., 32, 3, 1976, 282.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Atomul de fier din globină este legat de lanţurile polipeptidice la nivelul următorilor aminoacizi:

   A. Histidină şi leucină
   B. Valină şi histidină
   C. Histidină
   D. Tirozină

2. Stabiliţi corespondenţa între stadiile dezvoltării ontogenetice şi tipurile de hemoglobină care le sînt caracteristice:

A. Stadiul embrionar timpuriu	I. Hemoglobina A
B. Stadiul fetal	II. Hemoglobina F
C. După 4 luni de la naştere	III. Hemoglobinele Gower 1, Gower 2, Portland 1

3. Contactele cele mai importante pentru funcţia de transportor de oxigen a hemoglobinei sînt cele dintre lanţurile:

   A. α_1 şi β_2
   B. β_1 şi β_2
   C. α_1 şi α_2

4. Sinteza lanţurilor de globină se produce în:

   A. Celula suşă (matcă) şi proeritroblast
   B. Eritroblaşti şi reticulocite
   C. Doar în eritroblaşti
   D. Doar în reticulocite

5. Stabiliţi corespondenţa dintre noţiunile de mai jos şi semnificaţia lor:

A. Eritrogenină
B. Eritropoietinogen
C. Eritropoietină

I. α_1-globulină sintetizată în ficat, reprezentînd precursorul eritropoietinei
II. Factorul umoral de reglare a eritropoiezei, avînd ca principală acţiune stimularea proliferării celulelor „angajate" spre seria eritrocitară
III. Factorul renal stimulator al eritropoiezei, sub a cărui acţiune eritropoietinogenul se transformă în eritropoietină

6. Modul de acţiune a eritropoietinei constă din:

A. Stimularea proliferării şi maturării celulelor precursoare ale seriei eritrocitare
B. Stimularea producerii de ARN mesager în celulele cu rol în sinteza hemoglobinei
C. Descărcarea din măduvă a elementelor mature din seria eritrocitară
D. Creşterea absorbţiei intestinale a fierului
E. Toate mecanismele de mai sus, în egală măsură
F. Mecanismul prezentat la punctul A ca acţiune principală, în timp ce mecanismele B, C şi D intervin în mod adjuvant

7. Hipoxia stimulează eritropoieza:

A. Direct, prin acţiune nemijlocită asupra măduvei hematoformatoare
B. Exlusiv umoral, prin declanşarea producerii de eritropoietină
C. Doar prin mecanism nervos
D. Nervos şi umoral

8. Creşterea afinităţii hemoglobinei pentru oxigen este exprimată prin:

A. creşterea p_{50}
B. scăderea p_{50}

9. Pe parcursul fixării oxigenului de hemoglobină afinitatea acesteia pentru oxigen:

A. creşte
B. scade
C. nu se modifică

10. Oxihemoglobina şi dezoxihemoglobina au afinităţi diferite pentru ogixen deoarece:

A. au structuri diferite
B. au greutăţi moleculare diferite
C. au configuraţii moleculare spaţiale diferite

11. Specificaţi ce modificări se produc pe parcursul fixării oxigenului de hemoglobină:

A. Pierderea unor aminoacizi
B. Ruperea unor punţi saline
C. Acumularea de apă
D. Ruperea unor punţi saline şi pierderea DPG
E. Acumularea de DPG şi ruperea de punţi saline
F. Formarea de punţi saline

12. Specificaţi care dintre următoarele fenomene sporesc eliberarea oxigenului spre ţesuturi, în condiţiile hipoxiei tisulare:

A. Devierea la stînga a curbei de disociere a oxihemoglobinei
B. Efectul Bohr şi creşterea DPG eritrocitar
C. Scăderea DPG eritrocitar
D. Efectul Bohr şi scăderea DPG eritrocitar

13. În care dintre stările patologice de mai jos se constată o creştere a afinităţii hemoglobinei pentru oxigen (scăderea p_{50})?

A. Bronhopneumopatii cronice
B. Acidoza acută
C. Hipertiroidism
D. Insuficienţa cardiacă cu debit cardiac scăzut
E. Prezenţa unui exces de hemoglobină F
F. În toate aceste situaţii
G. În nici una dintre aceste situaţii

14. Specificaţi care este caracteristica „buzunarului hemic" al globinei care asigură protecţia împotriva oxidării ireversibile a fierului din hemoglobină:

A. Caracterul hidrofob al aminoacizilor care tapetează acest buzunar
B. Caracterul hidrofil al aminoacizilor care tapetează buzunarul
C. Dimensiunea mică
D. Prezenţa histidinelor în E7 şi F8
E. Toate aceste particularităţi

15. Mecanismul principal de reducere a methemoglobinei produse în mod normal în eritrocit este mediat de:

A. acidul ascorbic
B. glutation
C. o enzimă dependentă de NADPH
D. o enzimă dependentă de NADH

16. Methemoglobinemia ereditară care răspunde la tratamentul cu albastru de metilen este produsă de:

A. Hemoglobine M (anomalii ale lanţurilor de globină)
B. Defecte ale sistemelor care asigură reducerea methemoglobinei
C. Nu se poate face o diferenţiere a acestor două forme de methemoglobină pe baza testului terapeutic cu albastru de metilen

17. Stabiliţi corespondenţa dintre următoarele tipuri de hemoglobină şi particularităţile care le sînt caracteristice:

A. Hemoglobina F
B. Hemoglobina S
C. Hemoglobine instabile
D. Hemoglobina A

I. Precipitare prin expunere la temperatura de 50°C
II. Gelificare sub formă de tactoizi, în condiţii de hipoxie
III. Creşterea rezistenţei la alcali
IV. Nu prezintă nici una dintre particularităţile de mai sus

18. Talasemiile se produc ca urmare a unei

A. Sinteze de hemoglobine anormale
B. Scăderi ale sintezei unor anumite tipuri de lanţuri de globină
C. Creşteri ale sintezei unor lanţuri de globină

19. Stabiliţi corespondenţa dintre manifestările patologice de mai jos şi entităţile nozologice pe care le sugerează:

A. Agregarea severă a eritrocitelor în vasele capilare în condiţii de hipoxie şi producerea consecutivă de microinfarcte (intestinale, pulmonare, renale etc) şi anemie cu celule în formă de seceră

I. Prezenţa de hemoglobină cu afinitate crescută faţă de oxigen
II. Talasemie adevărată („major")

B. Cianoză survenind la pacienţi fără afecţiuni cardiace sau pulmonare şi influenţabilă în mod trecător de un tratament cu albastru de metilen şi acid ascorbic

C. Anemie severă, anizopoikilocitoză, tulburări de creştere, craniu în formă de turn, hepatosplenomegalie

D. Fatigabilitate şi poliglobulie care nu poate fi încadrată într-un sindrom mieloproliferativ. Lipsa cianozei

III. Methemoglobinemie cauzată de un deficit de NADH-methemoglobin-reductază

IV. Starea homozigotă pentru hemoglobina S

20. Deplasarea spre dreapta a curbei de disociere a hemoglobinei se poate obţine prin:

A. Propranolol

B. Acetazolamidă

C. Ambele

D. Nici unul (ambele deplasează curba la stînga)

X METABOLISMUL PIGMENȚILOR ȘI ACIZILOR BILIARI. BIOCHIMIA SECREȚIEI BILIARE

Bilirubina și acizii biliari constituie principalii anioni organici ai bilei. Deși proveniența, metabolismul și mecanismele de secreție biliară a acestor compuși diferă, eliminarea lor este în strînsă interdependență, iar sindroamele colestatice se însoțesc în majoritatea cazurilor de o retenție concomitentă de bilirubină și de acizi biliari. Din acest motiv anomaliile prezentate de acești anioni organici ai bilei vor fi tratate în același capitol.

METABOLISMUL BILIRUBINEI

Înțelegerea modificărilor patologice ale bilirubinei și diferențierea sindroamelor icterice implică cunoașterea mecanismelor de formare, conjugare și eliminare a acestui compus precum și a transformărilor suferite de pigmenții biliari excretați în tractul digestiv.

Formarea bilirubinei

Bilirubina este produsă prin desfacerea oxidativă a inelului tetrapirolic (porfirinic) al hemoglobinei și al altor hemoproteine. *Mecanismul enzimatic* care catalizează acest proces implică cel puțin două principale etape. Sub acțiunea unui prim sistem enzimatic cu localizare microsomală (microzomială), așa-zisa *„hemoxigenază microsomală"*, și în prezența de oxigen molecular (O_2) și NADPH are loc o descompunere a hemului care eliberează fier, CO și biliverdină. Așa cum reiese din fig. 10—1 în activarea oxigenului molecular intervine citocromul P_{450}, iar în transportul hidrogenului desprins de pe NADPH participă o flavoproteină (23, 40).

În continuare, biliverdina, produsă sub acțiunea acestui prim sistem enzimatic, este redusă spre bilirubină printr-un proces catalizat de *biliverdinreductază*. Există indicii că în cursul catabolizării

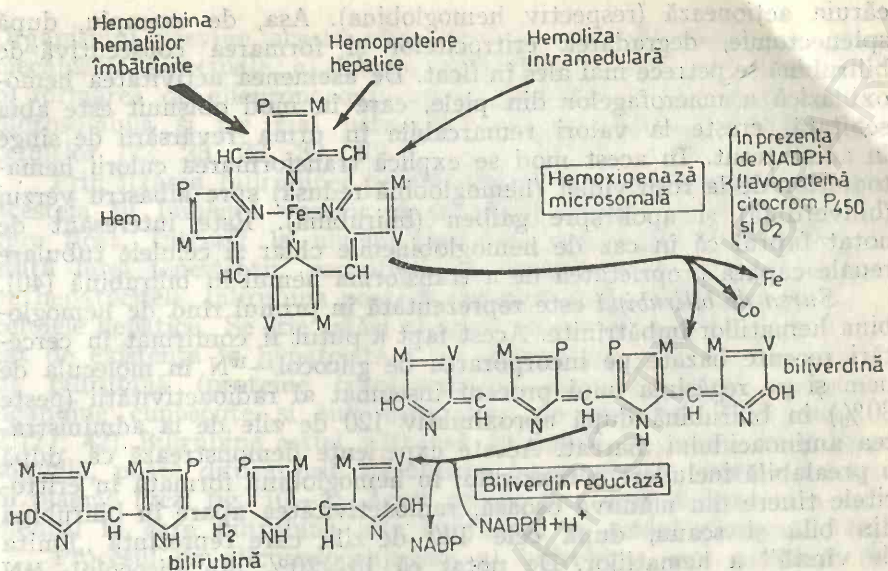


Fig. 10—1. Mecanismele biochimice implicate în degradarea hemului și producerea de bilirubină (după Schmid (40) modificată) M = metil; V = vinil; P = propionil

hemului rezultă și mici cantități de compuși mono și mai ales dipirolici, așa cum sînt bilifuscina și mezobilifuscina (40).

Viteza cu care hemul este transformat în bilirubină depinde mai ales de primul sistem enzimatic (hemoxigeneza microsomală) întrucît biliverdinreductaza se găsește întotdeauna în exces. Din acest motiv, biliverdina, care rezultă în etapa intermediară de degradare a h mului, este transformată cu mare rapiditate în bilirubină și nu ajunge să se acumuleze (23, 40). În orice caz, viteza globală a reacției, respectiv capacitatea de transformare a hemoglobinei în bilirubină este deosebit de mare, ceea ce explică observația că în anemiile hemolitice se ajunge de regulă la hiperbilirubinemie și doar în rare cazuri la o hemoglobinemie exprimată. Cu alte cuvinte, viteza de eliberare a hemoglobinei în cursul hemolizelor patologice depășește doar în mod excepțional și atunci doar pe o perioadă scurtă de timp, viteza de degradare a hemului și formarea de bilirubină.

Locul de producere al bilirubinei este reprezentat de celulele sistemului reticuloendotelial din splină, ficat (celule Kupfer), ganglioni limfatici și macrofagele din diverse alte țesuturi. Sistemul enzimatic care catalizează formarea bilirubinei este inductibil, adică își crește activitatea atunci cînd se acumulează substratul asupra

căruia acţionează (respectiv hemoglobina). Aşa, de exemplu, după splenectomie, degradarea eritrocitelor şi formarea consecutivă de bilirubină se petrece mai ales în ficat. De asemenea activitatea hemooxidazică a macrofagelor din piele, care în mod obişnuit este abia schiţată, creşte la valori remarcabile în urma revărsării de sînge în acest ţesut. În acest mod se explică transformarea culorii hematoamelor de la roşu violet (hemoglobină redusă) spre albastru verzui (biliverdină) şi apoi spre galben (bilirubină). Este interesant de notat faptul că în caz de hemoglobinemie chiar şi celulele tubulare renale capătă proprietatea de a transforma hemul în bilirubină (40).

Sursa de bilirubină este reprezentată în primul rînd de hemoglobina hematiilor îmbătrînite. Acest fapt a putut fi confirmat în cercetări recente bazate pe incorporarea de glicocol—^{15}N în molecula de hem şi pe regăsirea unui procent însemnat al radioactivităţii (peste 80%) în bilirubină după aproximativ 120 de zile de la administrarea aminoacidului marcat. Aceste experienţe demonstrează că, după o prealabilă includere a trasorului în hemoglobina formată în eritrocitele tinere din măduva osoasă, radioactivitatea apare în bilirubina din bilă şi scaun, după cele 120 de zile, care reprezintă „limita de vîrstă" a hematiilor. De notat că 10—20% din glicocolul—^{15}N injectat apare incorporat în bilirubină încă din primele zile de la administrare. Această „bilirubină marcată precoce" nu poate proveni din hemoglobina hematiilor îmbătrînite, iar sursa ei pare a fi reprezentată de diverse hemoproteine hepatice (citocromi, oxidaze, catalaze) care au o viteză de remaniere foarte rapidă (turnover accelerat). O altă parte a acestei bilirubine marcată precoce pare a fi produsă ca urmare a unei hemolize intramedulare a unor elemente din seria eritrocitară care abia începuseră să se încarce cu hemoglobină şi respectiv abia încorporaseră glicocolul marcat. În cazul eritropoiezelor ineficiente (anemii de tip Biermer, anemii sideroacrestice, vezi şi pag. 102) cînd există o perturbare în procesul de maturare şi lansare în circulaţie a elementelor seriei roşii, procentul bilirubinei formate din astfel de surse poate depăşi 50% (36, 40).

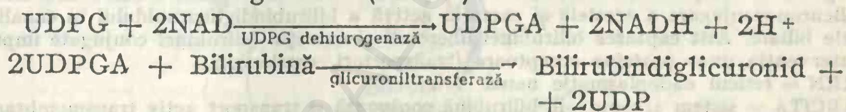
Transportul, conjugarea şi eliminarea prin bilă a bilirubinei

Bilirubina formată în celulele sistemului reticulo-endotelial este un pigment galben, insolubil în apă, dar care fiind liposolubil poate pătrunde cu uşurinţă prin membranele celulare de natură lipoidică. Prin aceasta, excesul de bilirubină de provenienţă reticulo-endotelială poate provoca leziuni ireversibile la nivelul sistemului nervos central.

Organismul previne aceste efecte nocive ale bilirubinei prin două mecanisme principale: a) fixarea bilirubinei pe albuminele serice şi b) formarea de glicuronoconjugaţi ai bilirubinei, care devine astfel hidrosolubilă şi nu mai pătrunde prin membranele lipoidice ale celulelor (22, 23, 33, 39, 40).

Prin fixarea bilirubinei pe albuminele serice, se asigură retenţia acesteia în lumenul vaselor şi totodată se facilitează transportul spre ficat. Întrucît la nivelul ficatului, capilarele sinusoidale prezintă largi fenestraţii, permiţînd un contact nemijlocit al plasmei cu hepatocitele, bilirubina poate fi preluată de pe albumine de către celulele hepatice. Se ştie astăzi că acest proces de captare este facilitat de existenţa în hepatocite a cel puţin două proteine acceptoare de bilirubină (proteine transportoare; carrier-proteins) aşa-zisele ligandine cunoscute şi sub denumirea de proteina Y şi proteina Z (27, 42). Bilirubina astfel pătrunsă în celula hepatică, fiind liposolubilă, poate difuza prin membrana hepatocitului, reîntorcîndu-se în plasmă (vezi fig. 10–2). Acest proces este mult limitat din momentul în care bilirubina este conjugată cu acidul glicuronic (40).

Procesul de glicuronoconjugare al bilirubinei este catalizat de enzima *bilirubin-glicuroniltransferază*, localizată doar în hepatocite şi anume la nivelul microsomilor (40). Acidul glicuronic utilizat pentru conjugarea bilirubinei provine din nucleotidul uridindifosfat-acid glicuronic (UDPGA), care, la rîndul său, este format prin dehidrogenarea uridindifosfatglucozei (UDPG):



$$\mathrm{UDPG + 2NAD \xrightarrow[\text{UDPG dehidrogenază}]{} UDPGA + 2NADH + 2H^{+}}$$

$$\mathrm{2UDPGA + Bilirubină \xrightarrow[\text{glicuroniltransferază}]{} Bilirubindiglicuronid + 2UDP}$$

Cea mai mare parte a bilirubinei conjugate şi eliminate prin bilă se găseşte sub formă de diglicuronid şi doar o mică cantitate este reprezentată de monoglicuronid. Prin glicuronoconjugare, bilirubina devine hidrosolubilă, ceea ce favorizează eliminarea ei prin bilă şi menţinerea ei în soluţie în căile biliare intra- şi extrahepatice. Merită subliniat faptul că secreţia bilirubinei în canaliculele biliare este un proces biologic activ, energodependent şi saturabil (5, 21, 23, 40). Cu alte cuvinte, o producţie excesivă de bilirubină poate depăşi capacitatea de glicuronoconjugare şi de eliminare a acesteia de către hepatocite. După cum preluarea bilirubinei libere din plasmă este mediată de o proteină hepatică transportoare, tot aşa şi excreţia în bilă a bilirubinei conjugate este facilitată de o astfel de proteină-acceptor specifică. Este evident că eliminarea bilirubinei în bilă, şi mai ales curgerea ei prin căile biliare, va depinde şi de fluxul apos al bilei.

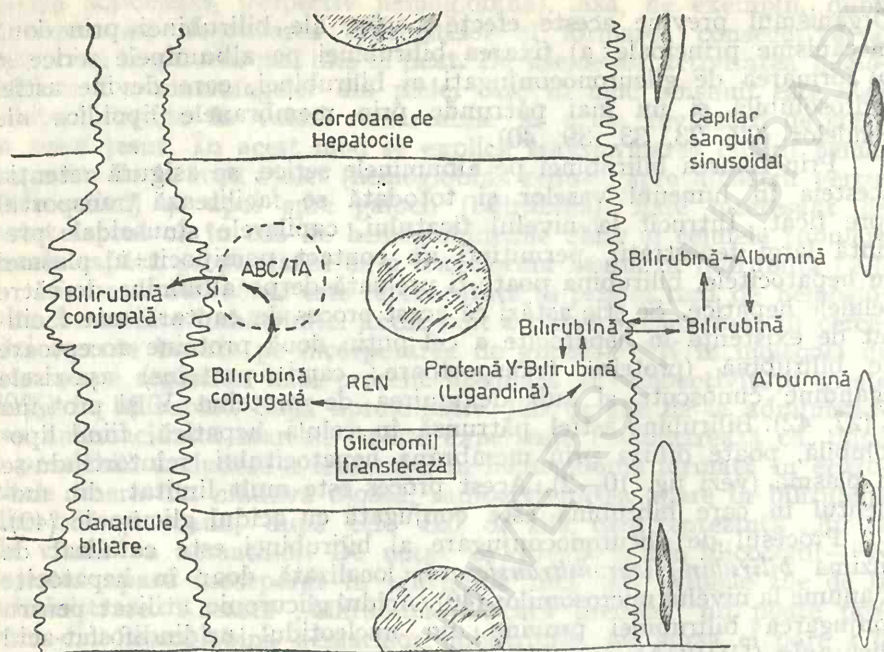


Fig. 10–2. Reprezentarea schematică a mecanismelor de captare a bilirubinei libere, glicuronoconjugare a acesteia și excreția activă a bilirubindiglicuronidului în canaliculele biliare. Atît captarea bilirubinei libere cît și excreția bilirubinei conjugate implică intervenția unor proteine acceptoare (transportori, carriers).
REN = reticul endoplasmatic neted
ABC/TA = sistem acceptor de bilirubină conjugată și transport activ transmembranal.

Transformările suferite de pigmenții biliari în intestin

S-a calculat că un adult normal elimină zilnic prin bilă 200–300 mg bilirubină (30). Atît timp cît bilirubina revărsată în intestin rămîne conjugată cu acidul glicuronic, ea nu se poate reabsorbi prin mucoasa intestinală, astfel încît nu se poate vorbi de un circuit enterohepatic al bilirubinei. Abia la nivelul porțiunii finale a ileonului și mai ales în colon, are loc un proces de hidroliză a bilirubindiglicuronidului sub acțiunea unei β-glicuronidaze bacteriene. Concomitent cu acest proces se produce și o reducere a bilirubinei, formîndu-se o serie de compuși tetrapirolici incolori care poartă denumirea colectivă de urobilinogeni (stercobilinogeni). Cea mai mare

parte a acestor urobilinogeni nu se reabsoarbe, iar la nivelul colonului distal este oxidată spre stercobilină care contribuie în mare măsură la culoarea brună a materiilor fecale. O mică cantitate de urobilinogeni se reabsoarbe la nivelul colonului în circulaţia portală şi ajunsă la ficat este preluată de hepatocite şi excretată în bilă. Acest proces este energodependent şi necesită intervenţia unor proteine transportoare (23, 26, 40). Doar cantităţi infime de urobilinogeni (0—4 mg/24 h) scapă în vena suprahepatică şi apar în urină, unde pot forma urobilină printr-un proces de oxidare (30). Acest urobili-

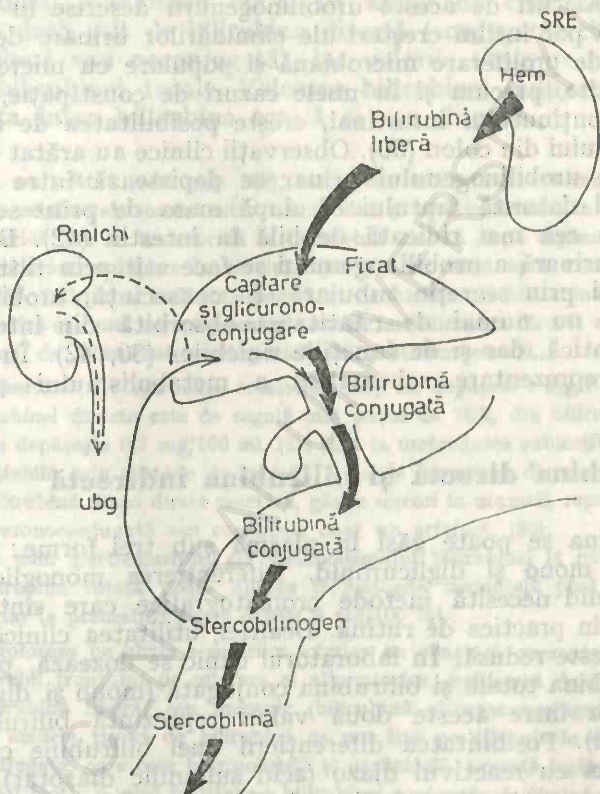


Fig. 10—3. **Metabolismul bilirubinei şi soarta pigmenţilor biliari în tractul digestiv. Cea mai mare parte a stercobilinogenului format din bilirubină se transformă în stercobilină şi se elimină cu materiile fecale. Mici cantităţi de stercobilinogen (urobilinogen) se absorb şi sînt captate şi resecretate în bilă de către ficat. Cantităţi infime scapă din circulaţia enterohepatică şi se elimină prin rinichi.**

nogen urinar este de regulă sub limita posibilităţilor de detectare cu metodele de rutină utilizate în laboratorul clinic (reactiv Ehrlich).

În cazul formării de bilirubină în exces (de exemplu, în icterele hemolitice) şi a eliminării crescute de pigmenţi biliari în intestin, se formează însă cantităţi importante de urobilinogeni care pot depăşi capacitatea de captare şi excreţie a hepatocitelor, şi, în consecinţă, apar în urină în cantităţi detectabile. Urobilinogenuria apare şi în caz de afecţiuni hepatocelulare, cînd mecanismul activ de captare şi transport a urobilinogenului de către hepatocite este perturbat. Alături de aceste urobilinogenurii descrise în mod clasic (42), se mai pot întîlni creşteri ale eliminărilor urinare de urobilinogen în caz de proliferare microbiană şi populare cu microbi a intestinului subţire, precum şi în unele cazuri de constipaţie, cînd, prin stagnarea conţinutului intestinal, creşte posibilitatea de absorbţie a urobilinogenului din colon (30). Observaţii clinice au arătat că valorile maxime ale urobilinogenului urinar se depistează între orele 14 şi 16, probabil datorită faptului că după masa de prînz se ajunge la concentraţia cea mai ridicată de bilă în intestin (42). De notat că eliminarea urinară a urobilinogenului se face atît prin filtrare glomerulară cît şi prin secreţie tubulară. În consecinţă, urobilinogenuria va depinde nu numai de cantitatea absorbită din intestin şi de funcţia hepatică, dar şi de funcţiile rinichilor (30, 42). În fig. 10–3 redăm o reprezentare schematică a metabolismului pigmenţilor biliari.

Bilirubina directă şi bilirubina indirectă

Bilirubina se poate găsi în plasmă sub trei forme: liberă (neconjugată), mono şi diglicuronid. Diferenţierea monoglicuronidului de diglicuronid necesită metode cromatografice care sînt mai greu de efectuat în practica de rutină. Dealtfel, utilitatea clinică a acestei diferenţieri este redusă. În laboratorul clinic se dozează, prin reacţia diazo, bilirubina totală şi bilirubina conjugată (mono şi diglicuronid), iar diferenţa între aceste două valori reprezintă bilirubina liberă (neconjugată). Posibilitatea diferenţierii unei bilirubine care reacţionează direct cu reactivul diazo (acid sulfanilic diazotat) şi a unei fracţiuni care reacţionează indirect, adică doar după tratarea serului cu alcool, a fost semnalată încă din 1916 de van den Bergh şi colab. (49), iar aceste observaţii au contribuit enorm la înţelegerea fiziopatologiei icterelor şi la diagnosticul diferenţial al acestora. Astăzi se ştie (30, 39, 40) că bilirubina glicuronoconjugată, care este hidroolubilă, reacţionează prompt cu acidul sulfanilic diazotat formînd

un complex colorat, azobilirubina, care la pH alcalin este albastru, iar în mediu acid sau neutru este roşu. În consecinţă această formă de bilirubină conjugată a fost denumită bilirubină directă (diazo direct reactivă).

Bilirubina liberă (neconjugată), care nu este hidrosolubilă, nu reacţionează direct cu reactivul diazo, ci doar după o prealabilă tratare a serului cu alcool etilic sau metilic sau în prezenţa a diverşi acceleratori de reacţie (cofeină, benzoat de sodiu, salicilat, antipirină, piridină, acetamidă etc.). În astfel de condiţii reacţia de culoare este dată atît de bilirubina directă (conjugată) cît şi de cea indirectă (liberă sau neconjugată), iar valorile obţinute constituie o măsură a bilirubinei totale. Valoarea bilirubinei indirecte se obţine din diferenţa între bilirubina totală şi cea directă.

Aşa cum s-a arătat (vezi pag. 168), bilirubina indirectă (liberă sau neconjugată) este produsă în celulele sistemului reticuloendotelial şi este vehiculată în plasmă legată de albumina serică. Ea se transformă în bilirubină directă după captarea ei de către hepatocit şi glicuronoconjugare la nivelul microsomilor fiind apoi excretată în bilă. Din acest motiv, bilirubina indirectă poartă şi denumirile de bilirubină reticuloendotelială, prehepatică sau mai corect premicrosomală, iar bilirubina directă este cunoscută şi sub termenii de bilirubină posthepatică sau postmicrosomală.

Valorile normale ale bilirubinei totale la adulţi nu depăşesc 1 mg/100 ml, iar concentraţia bilirubinei directe este de regulă mai puţin de 10% din bilirubina totală şi în orice caz nu depăşeşte 0,2 mg/100 ml. (De fapt la majoritatea subiecţilor normali, ea este neevidenţiabilă prin metode de rutină). Este de asemenea discutabil dacă micile cantităţi de bilirubină diazo direct reactivă, găsite uneori la normali, reprezintă de fapt bilirubina glicuronoconjugată sau constituie doar un artefact. (30).

Datorită unor particularităţi ale metabolismului bilirubinei la nou-născut (vezi pag. 175), bilirubina totală poate ajunge în perioada neonatală pînă la valori de 5 mg/100 ml, iar la prematuri poate depăşi 8 mg/100 ml.

La electroforeza pe hîrtie a serurilor icterice se constată prezenţa unei coloraţii galbene la nivelul frontului de migrare al albuminelor, indiferent dacă icterul a fost hemolitic (bilirubină liberă) sau mecanic (bilirubină glicuronoconjugată). Acest fapt dovedeşte că ambele tipuri de bilirubină se pot fixa pe albuminele serice. În cazul bilirubinei conjugate, care este hidrosolubilă şi dializabilă, această legătură e însă mai labilă. Din acest motiv o mică fracţiune a bilirubinei conjugate se elimină pe cale renală printr-un proces de filtrare glomerulară. Eliminarea pe cale urinară a bilirubinei conjugate este facilitată de sărurile biliare tensioactive şi de alcaloză, în timp ce în cursul acidozelor, excreţia urinară de bilirubină conjugată descreşte (42). Aceasta se datoreşte probabil faptului că bilirubina, care este un anion, se fixează pe grupările bazice ale albuminei, iar acidoza favorizează disocierea acestor grupări bazice şi deci o mai strînsă legare a bilirubinei de albumină.

Tabel 10—1

Proprietăţi fizico-chimice şi semnificaţia patogenetică a bilirubinei libere şi a bilirubinei glicuronoconjugate

	Valori normale	Proprietăţi fizico-chimice	Creşteri patologice în:	Rol patogenic
Bilirubina liberă (neconjugată)	sub 1 mg/100 ml	Diazo *indirect* pozitivă. Insolubilă în apă Fixată pe albumine. Nu trece în urină şi lichidul interstiţial; liposolubilă	Ictere hemolitice La nou-născuţi Boala Gilbert Sindr. Crigler-Najjar. Leziuni hepato-celulare	În caz de creştere excesivă care depăşeşte capacitatea de fixare a albuminei, difuzează prin bariera hematoencefalică şi produce icter nuclear
Bilirubina glicuronoconjugată	0—0,15 mg/100 ml	Diazo *direct* pozitivă Solubilă în apă Fixată mai labil pe albumine Trece în urină şi lichidul interstiţial	Ictere colestatice Sindr. Dubin-Johnson, Sindr. Rotor, Leziuni hepato-celulare	Nu trece prin bariera hematoencefalică şi nu produce leziuni nervoase; difuzată în lichidul interstiţial, se poate oxida spre biliverdină dînd icterului o nuanţă verzuie

Bilirubina indirectă (neconjugată), nefiind hidrosolubilă și nici dializabilă, nu trece în urină. Atunci cînd concentrația ei depășește însă capacitatea de fixare a albuminei serice, ea poate difuza prin membranele celulare, fiind liposolubilă și produce leziuni ale sistemului nervos central (vezi și pag. 176). De notat că efectele toxice ale bilirubinei sînt potențate de unii anioni organici, cum sînt salicilații și acizii grași liberi, care intră în competiție cu bilirubina, în privința fixării pe moleculele de albumină serică (22, 33, 45).

În tabelul 10—1 redăm în mod sintetic principalele diferențe între bilirubina directă și bilirubina indirectă.

Particularități ale metabolismului bilirubinei la nou-născut. Hiperbilirubinemia neonatală

La diverse specii de maimuțe, și după toate probabilitățile și la oameni, bilirubina liberă (neconjugată), formată în sistemul reticuloendotelial, se elimină din organimsul fetal prin transfer placentar de la făt la mamă (38). Acest proces este favorizat de concentrația relativ mai scăzută a albuminelor serice în organismul fetal. În consecință, bilirubina tinde să treacă spre circulația maternă mai bogată în albumine serice capabile să o fixeze și să o transporte. Transferul placentar de bilirubină are o deosebită importanță, întrucît la făt mecanismele hepatice de îndepărtare a pigmenților biliari sînt inadecvate. Lipsa de maturare a acestor mecanisme implică: a) un deficit în procesul de captare al bilirubinei la nivelul hepatocitului, cauzat, se pare, de o concentrație scăzută de proteine acceptoare (transportoare) Y și Z (ligandine) (vezi pag. 169); b) un deficit în procesul de formare al uridindifosfat-acidului glicuronic (UDPGA) (vezi pag. 169); c) o activitate diminuată a glicuroniltransferazei; d) o viteză redusă de excreție a bilirubinei glicuronoconjugate.

Prezența de pigmenți biliari în meconiul nou-născuților se datorește mai ales eliminărilor, destul de reduse, de bilirubină neconjugată atît în bilă cît mai ales prin mucoasa intestinală (38, 40). Deficitele semnalate mai sus, asociate cu o exacerbare a hemolizei coincizînd cu nașterea, sînt în măsură să explice „icterul fiziologic" al nou-născutului, la care mecanismul compensator al transferului placentar de bilirubină a fost brusc întrerupt. Așa cum s-a mai arătat (vezi pag. 173), concentrația bilirubinei totale poate ajunge în primele 24 ore de la naștere la valori de 5 mg/100 ml și, adeseori, continuă să crească în primele 3—4 zile pînă la 10—12 mg/100 ml. Aproximativ 95% a acestei bilirubine dă o reacție diazo indirectă (30). Mecanismele hepatice de secreție a bilirubinei se maturează apoi destul de repede, astfel că după aproximativ o lună de la naștere, bilirubinemia este

de aproximativ 1,5 mg/100 ml. La noul născut prematur, valorile bilirubinemiei sînt încă și mai ridicate, putînd ajunge în ziua a patra de la naștere la valori de 24 mg/100 ml. Este evident că hemolizele brutale cauzate de o incompatibilitate de Rh (eritroblastoza fetală) se însoțesc de creșteri excesive ale bilirubinemiei (30, 40).

Creșteri destul de exprimate ale bilirubinei neconjugate se pot întîlni însă și în lipsa unei hemolize patologice. Așa, de exemplu, la unii nou-născuți, maturarea mecanismelor de excreție a bilirubinei este întîrziată din cauza unui steroid încă neidentificat trecut de la mamă la făt în perioada intrauterină. Acest steroid, mai probabil un derivat de progesteronă, are proprietatea de a inhiba reacția de glicuronoconjugare. În unele cazuri factorul de inhibare a glicuroniltransferazei pare a fi transmis de la mamă la nou-născut prin intermediul laptelui (4, 30).

Creșteri ale bilirubinemiei neconjugate la valori care depășesc 20 mg/100 ml realizează condiții favorabile pentru difuzarea pigmentului în țesuturi și pătrunderea lui prin membranele lipoidice ale celulelor. Pericolul major este reprezentat de trecerea bilirubinei libere prin bariera hematoencefalică, cînd se poate ajunge la leziuni ireversibile ale sistemului nervos, interesînd în special nucleii cenușii de la baza creierului (icter nuclear). Leziunile evoluează cu fenomene convulsive și adeseori deces, iar la copiii care scapă cu viață se pot instala fenomene de ataxie. Acțiunea toxică a hiperbilirubinemiei indirecte este favorizată de o permeabilitate crescută a barierei hematoencefalice, de hipoxie și de hipoalbuminemie. Așa cum s-a mai arătat (vezi pag. 175), efectele nocive ale bilirubinei neconjugate, sînt potențate de diverși anioni organici (salicilați, sulfamide, acizi grași liberi) care dislocă pigmentul de albumina serică (33, 40). Hiperbilirubinemia indirectă a nou-născuților este accentuată și de novobiocină, un antibiotic care inhibă glicuroniltransferaza (30, 42). Pe de altă parte s-a constatat că administrîndu-se fenobarbital mamei, în cursul travaliului, se obține o diminuare a intensității icterului la nou-născut. Acest efect al fenobarbitalului a fost explicat prin acțiunea sa de stimulare a sintezei (inducere) de proteină Y acceptoare de bilirubină și a sintezei de glicuroniltransferază (19, 34).

De notat că în caz de hiperbilirubinemii excesive se indică exanguinotransfuzia. Rezultate favorabile se obțin și prin administrare intravenoasă de albumină umană care contribuie la reținerea în vase a excesului de bilirubină. Acest procedeu este utilizat mai ales pentru potențarea eficienței exanguinotransfuziei (40). Este interesantă din punct de vedere teoretic, și utilă din punct de vedere practic, constatarea că bilirubina neconjugată este un pigment fotolabil care

se descompune sub acţiunea luminii în compuşi diazonegativi care par a fi mai puţin toxici (11, 32).

De subliniat faptul că bilirubina conjugată nu poate trece prin bariera hematoencefalică şi nu este niciodată toxică pentru sistemul nervos.

Fiziopatologia sindromului icteric

Sindromul icteric constă dintr-o coloraţie anormală a tegumentelor şi mucoaselor cauzată de o acumulare de pigmenţi biliari. Conform celor arătate mai sus cu privire la metabolismul bilirubinei, mecanismele care duc la apariţia sindromului icteric ar putea fi reprezentate de: 1) o producţie excesivă de bilirubină, cauzată de o hemoliză (eventual hemoliză intramedulară); 2) un defect de captare a bilirubinei neconjugate de către hepatocite; 3) un deficit al procesului de glicuronoconjugare; 4) o perturbare a procesului de excreţie activă a bilirubinei conjugate; 5) o perturbare a formării şi curgerii fluxului biliar în căile biliare intrahepatice; 6) o îngustare sau chiar o obstrucţie totală a căilor biliare extrahepatice. Intervenţia primelor trei mecanisme duce la acumularea de bilirubină neconjugată (diazo indirectă), pe cînd, în cazul icterelor produse prin mecanismele 4, 5 şi 6, se constată o creştere a bilirubinei conjugate (diazo direct reactivă). Această formă de bilirubină, regurgitează sau este reabsorbită din canaliculii biliari. În realitate, mecanismele arătate mai sus sînt adeseori intricate. Exemplul cel mai tipic în acest sens îl reprezintă cazurile de hepatită la care se asociază defecte de captare, conjugare şi excreţie, cu fenomene de regurgitare cauzate de o alterare a cordoanelor de hepatocite. În plus, la numeroşi bolnavi cu icter hepatocelular se adaugă şi o componentă hemolitică.

Pe de altă parte, obstrucţiile prelungite ale căilor biliare extrahepatice vor produce cu timpul o perturbare a captării şi glicuronoconjugării bilirubinei de către hepatocite (30, 42).

S-a observat că bilirubina conjugată produce un icter mai intens decît o aceeaşi concentraţie serică de bilirubină liberă. Acest fenomen s-ar putea datora faptului că bilirubina conjugată, hidrosolubilă şi mai labil fixată pe albumină, pătrunde mai uşor în lichidul interstiţial (fără a penetra însă prin bariera hematoencefalică şi prin membranele lipoidice ale celulelor nervoase). În caz de icter mecanic deosebit de intens, fluidele oculare pot deveni încărcate cu bilirubină conjugată, ceea ce poate explica apariţia xantopsiei (vedere galbenă). Acest simptom este foarte rar întîlnit, dar pigmentarea sudoarei, urinii, lichidului spermatic şi a laptelui se întîlnesc adeseori în icterele cu

hiperbilirubinemie conjugată. Bilirubina se leagă cu ușurință de fibrele elastice din piele și din scleroticele oculare, iar acest fenomen este în măsură să explice persistența colorației icterice a bolnavului și după ce bilirubina serică are tendința de a reveni la normal, în cursul vindecării procesului patologic.

În cursul evoluției icterelor foarte intense și prelungite, și în special în cazurile de obstrucție totală a coledocului printr-un proces malign, colorația tegumentelor poate deveni verzuie, din cauza oxidării bilirubinei spre biliverdină. Remarcabil este faptul că biliverdina nu dă reacția diazo, dar produce o colorare a tegumentelor mult mai intensă decît bilirubina. Această particularitate contribuie și ea la explicarea discrepanțelor care se pot constata uneori între nivelul bilirubinemiei plasmatice, determinate prin reacția diazo, și intensitatea icterului (22, 30, 40, 42).

Diferențierea diverselor tipuri de icter

O clasificare simplă a icterelor se poate face în funcție de tipul hiperbilirubinemiei (directă sau indirectă). Așa cum reiese însă din tabelul 10—1 și 10—2, în afecțiunile hepatocelulare (hepatite și ciroze) se pot întîlni creșteri ale ambelor forme de bilirubină. O clasificare patogenetică ideală ar trebui bazată pe cele șase mecanisme care duc la hiperbilirubinemie (vezi pag. 177). În cazurile de sindrom icteric, întîlnite în practica clinică, aceste mecanisme sînt însă de cele mai multe ori intricate. În consecință, împărțirea sindroamelor icterice în ictere hemolitice, ictere hepatocelulare și ictere mecanice (sau mai corect colestatice), o clasificare utilizată de multă vreme în clinică, rămîne cea mai adecvată și la ora actuală. La aceste tipuri de icter s-ar mai putea adăuga hiperbilirubinemiile cauzate prin defecte cu caracter genetic în metabolismul bilirubinei.

În tabelul 10—2 redăm în mod sintetic cîteva aspecte caracteristice ale principalelor tipuri de ictere întîlnite în practica medicală.

Icterele hemolitice

Exagerarea procesului de degradare a hemului poate surveni fie ca urmare a unei distrugeri crescute de hematii deja lansate în sîngele circulant, fie datorită unei hemolize intramedulare, așa cum survine în hematopoieza ineficientă (de exemplu în anemiile de tip Biermer) (36).

Reducerea duratei de viață a eritrocitelor din sîngele circulant realizează anemiile hemolitice. Aceste anemii pot avea un caracter congenital, genetic sau pot fi cîștigate. Anemiile hemolitice cu caracter

Tabel 10–2

Prezentare schematică a unor date de laborator utile în diagnosticul diferențial al icterelor. Complexitatea problemei este prezentată în text.

Tipul de icter	Comportarea pigmenților biliari			Alte probe de laborator	Observații
	în sînge	în fecale	în urină		
Hemolitic	crește bilirubina indirectă	hiperpigmentate	Pigmenți (bilirubină) negativ; Urobilinogen pozitiv	Transaminaze, fosfataza alcalină și γ-glutamil-transferaza (γGT) normale. Fier seric crescut.	Se indică explorări suplimentare hematologice (reticulociți, medulogramă) imunologice (autoanticorpi) și referitoare la enzimele eritrocitare. Se caută eventuale hemoglobine anormale. Diagnostic diferențial cu b. Gilbert și sindrom Crigler-Najjar
Colestatic	crește bilirubina directă	decolorate în caz de obstrucție totală	Pigmenți pozitiv; Urobilinogen negativ în caz de obstrucție totală	Transaminaze moderat crescute. Fosfataza alcalină și γ-GT *mult* crescute. Prezența acizilor biliari în sînge. Uneori prezența lipoproteinei χ (vezi pag. 207)	Orice adevărată colestază evoluează cu prurit și prezența de trombi biliari (histopatologic). Se vor explora căile biliare spre a elucida natura extra- sau intrahepatică a colestazei. Diagnostic diferențial cu un sindrom Dubin-Johnson
Hepatocelular	crește atît bilirubina indirectă cît și cea directă	mai adeseori colorate	Pigmenți pozitiv; Urobilinogen variabil (vezi pag. 183)	Variază în funcție de forma clinică. De ex., în hepatita acută, transaminazele cresc f. mult (>100 mU/ml). În ciroze evoluînd cu icter, transaminaze puțin modificate, dar colinesteraza serică mult scăzută. Fosfataza alcalică și γGT sînt mai puțin crescute decît în colestază.	Se vor face investigații pentru a se preciza natura hepatopatiei (virală, alcoolică etc.)

congenital survin în incompatibilitatea de Rh (eritroblastoza fetală), iar cele genetice pot fi consecutive unor defecte moştenite ale eritrocitelor. Astfel de defecte pot interesa fie membrana eritrocitelor (sferocitoza ereditară), fie sistemele enzimatice eritrocitare (de exemplu deficitul de glucozo-6-fosfatdehidrogenază) iar, uneori, se asociază cu anomalii ale sintezei de hemoglobină (talasemie şi anemia falcipară, vezi pag. 142 şi 153).

Anemiile hemolitice cîştigate pot fi puse în legătură cu factorii infecţioşi (de exemplu, în malarie sau în infecţiile cu clostridium perfringens, care complică adeseori avorturile septice) sau cu factori toxici (hidrogen arseniat, fenilhidrazină etc.).

Numeroase cazuri de anemii hemolitice sînt produse printr-un proces de autoimunizare, iar transfuziile de sînge incompatibil pot cauza hemolize extrem de brutale.

Hemoglobina eliberată prin distrugerea hematiilor este rapid descompusă la nivelul sistemului reticuloendotelial în globină, fier şi bilirubină. La adultul normal, la care durata de viaţă a eritrocitelor este de aproximativ 120 de zile, se distrug zilnic 200.000.000 globule roşii, ceea ce implică degradarea unei cantităţi de aproximativ 6 g hemoglobină şi producerea de 200—250 mg bilirubină. În hemolizele patologice, cantitatea de hemoglobină degradată poate ajunge la valori de 45 g/zi. Datorită faptului că în majoritatea cazurilor, hemoliza are loc la nivelul sistemului reticuloendotelial, precum şi datorită marii capacităţi a organismului de a transforma hemoglobina în bilirubină, creşterea marcată a hemoglobinei în sîngele circulant şi eliminarea ei prin urină se întîlneşte rareori şi doar pentru perioade scurte de timp. În cazul hemolizelor brutale, şi în special atunci cînd hemoliza are loc intravascular, hemoglobina se eliberează în plasmă şi se poate elimina prin urină ca atare. De regulă însă, hemoglobina eliberată în plasmă se combină rapid cu unele subfracţiuni de α_2 glicoproteine serice, denumite haptoglobine, complexul fiind apoi captat şi metabolizat spre bilirubină în ficat, rinichi şi măduva osoasă. Atunci cînd concentraţia plasmatică de hemoglobină liberă depăşeşte capacitatea de combinare a haptoglobinei, excesul de hemoglobină se transformă în hematină care este apoi cuplată cu albuminele serice, formînd methemalbumina (ferihemalbumină), care este metabolizată doar la nivelul ficatului formînd, în ultimă instanţă, tot bilirubină.

Este remarcabil faptul că deşi producţia de bilirubină poate ajunge în stările hemolitice pînă la valori de 1500 mg/zi (de aproximativ şase ori producţia normală), nivelul bilirubinemiei nu depăşeşte decît rareori concentraţia de 2—3 mg/100 ml. Aceasta se datoreşte marii capacităţi a ficatului de a capta, conjuga şi elimina bilirubina. Din acest motiv, creşteri ale bilirubinemiei indirecte la valori de peste 5 mg/100 ml, la un bolnav cu icter hemolitic, sugerează intervenţia adiţională a unei disfuncţii hepatice. Aşa, de exemplu, icterul nou-născuţilor, în care se ajunge la hiperbilirubinemii importante, nu

poate fi explicat doar prin hemoliză ci şi printr-o imaturitate a proceselor implicate în excreţia pigmenţilor biliari. (vezi pag. 175). Este de notat şi faptul că anemia şi hipoxia consecutivă deprimă funcţia hepatică. Întrucît icterul hemolitic se caracterizează prin creşterea bilirubinei indirecte (neconjugate), urina va fi lipsită de pigmenţi biliari (icter acoluric). În schimb, eliminarea excesivă de bilirubină în intestin se va însoţi de producerea unor mari cantităţi de stercobilinogen şi respectiv stercobilină, astfel încît materiile fecale devin hipercolorate, iar urobilinogenul urinar creşte.

Alături de particularităţile de metabolism ale pigmenţilor biliari, menţionate mai sus, icterele hemolitice se însoţesc şi de alte modificări legate de mecanismele patogenetice care intervin în producerea hemolizei. Aşa, de exemplu, aproate toate cazurile de icter hemolitic evoluează cu creşterea sideremiei, acest fenomen datorîndu-se nu numai eliberării de fier rezultat din catabolismul hemului dar şi unei absorbţii intestinale crescute de fier, stimulată de anemia şi hipoxia consecutivă (vezi pag. 88). Anemiile cauzate de o distrugere a hematiilor circulante au de regulă un caracter hiperregenerativ, evoluînd cu creşterea reticulocitelor în sîngele periferic şi hiperplazie cu caracter normoblastic a seriei eritrocitare în medulogramă. Examinările de laborator pot evidenţia caracterul megaloblastic al seriei eritrocitare în anemiile de tip Biermer, însoţite de hemoliză intramedulară, şi eventuala prezenţă a anticorpilor în anemiile cu caracter autoimun. Depistarea hemoglobinelor patologice sau a eventualelor defecte enzimatice sînt necesare pentru precizarea cadrului nozologic al anemiilor hemolitice cu caracter genetic.

Probele hepatice funcţionale sînt puţin modificate în icterele hemolitice, iar enzimele indicatoare ale colestazei (fosfataza alcalină, 5-nucleotidaza şi γ-glutamiltransferaza) sînt, de regulă, în limite normale. Enzimele care indică citoliza şi în special aspartataminotransferaza (transaminaza oxalacetică, GOT) şi lacticodehidrogenaza (LDH) cresc moderat în cursul puseelor hemolitice acute. Reamintim că anemiile de tip Biermer se însoţesc de creşteri deosebit de exprimate ale LDH, în timp ce transaminazele sînt puţin modificate (vezi vol. I p. 129). Pseudocolinesteraza serică este normală sau chiar uşor crescută în icterele hemolitice cu caracter hiperregenerativ şi anemie moderată, fiind însă semnificativ scăzută în anemiile megaloblastice severe. De notat că icterele hemolitice de durată pot duce la precipitarea de pigmenţi biliari în căile biliare şi la formarea de calculi de bilirubinat de calciu. În astfel de situaţii poate surveni o regurgitare de bilă din canaliculii biliari, însoţită de o creştere a bilirubinei conjugate în sînge. Evident că, în astfel de cazuri, dealtfel destul de rare, diagnosticul naturii icterului întîmpină dificultăţi apreciabile (22, 30, 42). Detalii privind *anemiile hemolitice* se pot găsi în tratate de hematologie.

Icterele colestatice

Noţiunea de colestază indică o perturbare a proceselor prin care bila ajunge în duoden. O astfel de perturbare poate surveni începînd de la canaliculele biliare şi chiar de la polul biliar al hepatocitului

(postmicrosomal) şi pînă la nivelul sfincterului lui Oddi. Fiziopatologia colestazei va putea fi mai bine înţeleasă după însuşirea noţiunilor referitoare la metabolismul acizilor biliari şi la mecanismul de formare a bilei. Vom arăta deocamdată doar că, alături de îngustarea sau obstrucţia mecanică a căilor biliare extrahepatice, colestaza poate avea cauze intrahepatice şi are, uneori, un caracter predominant funcţional. Din acest motiv, termenul de icter prin colestază este mai larg şi mai adecvat decît cel de icter mecanic (42).

Întrucît, în cursul colestazei se produce o retenţie de bilirubină conjugată (posthepatică, postmicrosomală), serul bolnavului dă o reacţie diazo direct pozitivă, iar urina este intens colurică, conţinînd mari cantităţi de pigmenţi biliari. Nivelul seric al bilirubinei totale este variabil, dar de cele mai multe ori depăşeşte valorile întîlnite în icterele hemolitice. Aşa, de exemplu, în icterul colestatic produs de un calcul inclavat în coledoc, bilirubinemia este de 3—10 mg/100 ml, iar în procesele neoplazice ale regiunii ampulei lui Vater, bilirubina creşte progresiv la valori de 15—30 mg/100 ml (30, 42). Întrucît bilirubina conjugată poate trece în lichidul interstiţial şi se poate oxida spre biliverdină, coloraţia icterică este deosebit de exprimată, iar, după o evoluţie mai prelungită, imprimă tegumentelor o coloraţie verzuie (42).

În caz de obstrucţie totală a fluxului biliar, bilirubina nu ajunge în lumenul intestinal şi din acest motiv nu se va forma stercolbilinogen şi respectiv stercobilină. În consecinţă, materiile fecale sînt decolorate, iar urobilinogenul nu pote fi detectat în urină. O astfel de situaţie se întîlneşte mai ales în caz de carcinom al regiunii ampulare (cancer de cap de pancreas), în timp ce în alte forme de colestază, care nu duc la obstrucţie totală (de exemplu în litiaza biliară sau în colestazele intrahepatice), culoarea scaunului este variabilă, iar urobilinogenul poate apare intermitent în urină (22, 30, 42).

Caracteristică pentru icterele colestatice este creşterea marcată a fosfatazei alcaline, 5-nucleotidazei şi γ-glutamiltransferazei. Transaminazele sînt moderat crescute (de regulă sub 100 mU/ml), iar probele hepatice funcţionale sînt puţin modificate la începutul obstrucţiei, avînd însă tendinţa de a se altera progresiv dacă colestaza persistă. Aşa, de exemplu, în carcinoamele de cap de pancreas, evoluînd cu fenomene de colestază progresivă şi prelungită (peste trei luni), nivelul poseudocolinesterazei poate ajunge la valori întîlnite în cirozele hepatice (sub 50 μM/ml /h după metoda De la Huerga şi colab.).

O altă particularitate a icterelor colestatice este reprezentată de creşterea lipidelor serice şi în special a fosfolipidelor şi colesterolului liber, fenomen care duce la formarea unei lipoproteine specifice colestazei, aşa-numita lipoproteină X. Asupra mecanismelor patogenetice implicate în colestază se va reveni la pag. 203.

Icterele hepatocelulare

Sindromul icteric poate apare în variate suferințe hepatocelulare, cum ar fi hepatita acută virală, puseele evolutive ale unei hepatite cronice, hepatopatiile alcoolice și cirozele hepatice. În majoritatea cazurilor, apariția icterului indică o alterare a funcției hepatocitelor (42). Disfuncția hepatică se repercută asupra captării, glicuronoconjugării și excreției bilirubinei în canaliculele biliare. La aceste mecanisme se adaugă un proces de turgescență a celulelor hepatice, care comprimă canaliculele biliare, precum și apariția unor comunicări între canaliculele biliare și capilarele sanguine, ca urmare a necrozei unor hepatocite. Modificarea arhitecturii hepatice, cauzată de alternarea proceselor de necroză, scleroză și regenerare nodulară caracteristică cirozelor creează, de asemenea, condiții pentru regurgitarea bilirubinei din canaliculele biliare în capilarele sinusoidale. Nu poate fi exclusă nici intervenția unei perturbări cu caracter funcțional a excreției active de bilirubină conjugată (vezi fig. 10—2), corelată cu eventuale anomalii în economia acizilor biliari și în formarea fluxului biliar apos (vezi pag. 196 și pag. 203). În felul acesta bilirubina conjugată difuzează în sînge chiar și în absența unor comunicări între canaliculele biliare și capilarele sanguine.

Există și forme de hepatite în care leziunile interesează mai ales endoteliile care tapează ducturile biliare intrahepatice și imprimă bolii un pronunțat caracter colestatic. În funcție de leziunile amintite, în icterele hepatocelulare cresc în sînge atît bilirubina liberă cît și bilirubina conjugată, iar aceasta din urmă trece în urină, căreia îi imprimă aspectul coluric. Intensitatea icterului hepatocelular este variabilă în funcție de etiologie, de starea ficatului și de stadiul evolutiv. Așa, de exemplu, în hepatita acută virală, nivelul bilirubinemiei este proporțional cu gravitatea bolii, dar depășește rareori 20 mg/100 ml (42). De regulă în urina bolnavilor cu icter hepatocelular se pune în evidență prezența urobilinogenului. Uneori însă, în cursul hepatitelor epidemice evoluînd cu fenomene colestatice pronunțate, scaunele devin palide, iar urobilinogenul dispare din urină. Reapariția urobilinogenului în urina unor astfel de bolnavi coincide cu reluarea fluxului biliar și a revărsării bilirubinei în tractul digestiv și indică ameliorarea colestazei și începutul vindecării. Evident că, în urma restabilirii funcțiilor hepatice, dispar din urină atît bilirubina cît și urobilinogenul (30).

Diagnosticul icterelor hepatocelulare este facilitat de comportarea altor teste de laborator. Așa, de exemplu, pentru hepatita acută este caracteristică creșterea exprimată a transaminazelor serice (10—100 x limita superioară a normalului), iar virusul hepatitei

poate fi evidenţiat în ser prin metode imunologice (ántigen HBs). În afecţiunile hepatice cu evoluţie cronică se constată o creştere a γ-globulinelor, în timp ce în icterele colestatice cresc α_2-globulinele. Pentru existenţa unei ciroze hepatice pledează scăderea marcată a albuminelor şi a pseudocolinesterazei serice. Fosfataza alcalină, 5-nucleotidaza şi γ-glutamiltransferaza sînt moderat crescute în afecţiunile hepatocelulare şi nu ating valorile întîlnite în colestază.

Hiperbilirubinemii prin defecte genetice în metabolismul bilirubinei

Alături de icterele descrise mai sus şi întîlnite mai frecvent în practica clinică, s-au descris şi hiperbilirubinemii cauzate de un defect genetic în procesele de captare, conjugare şi transport activ al bilirubinei la nivelul hepatocitului. În timp ce în afecţiunile hepatocelulare, mecanismele care duc la hiperbilirubinemie sînt intricate, în hiperbilirubinemiile cu caracter familial, defectul metabolic interesează doar o anumită etapă. Din acest motiv, hiperbilirubinemiile prin defect genetic, deşi rar întîlnite în practică, au o deosebită importanţă teoretică, aducînd dovezi convingătoare cu privire la mecanismele şi etapele de metabolizare a bilirubinei. În cele ce urmează vom descrie pe scurt cîteva astfel de entităţi nozologice mai bine definite.

Boala lui Gilbert

Gilbert şi colaboratorii săi (20) au descris încă de la începutul acestui secol cîteva cazuri care prezentau un aşa-zis „icter familial benign". Ulterior, în „sindromul Gilbert" au fost incluse, în mod nejustificat, o serie de cazuri la care creşterea bilirubinei se datora de fapt unor procese hemolitice compensate hematologic, adică evoluînd fără anemie. Astăzi se insistă (40) asupra următoarelor criterii absolut necesare pentru diagnosticul bolii lui Gilbert: 1) creşterea moderată dar cronică a bilirubinei indirecte; 2) valori normale ale bilirubinei conjugate; 3) eritropoieză şi reticulociţi în limite normale; 4) durată de viaţă a eritrocitelor normală; 5) lipsa anomaliilor morfologice la nivelul ficatului şi căilor biliare; 6) teste funcţionale hepatice normale.

Boala lui Gilbert definită ca o hiperbilirubinemie neconjugată uşoară, cronic intermitentă, nehemolitică, este deosebit de benignă, iar bolnavii care, de obicei nu prezintă nici o acuză subiectivă, sînt depistaţi întîmplător, cu ocazia unui examen de laborator. Bilirubinemia este doar moderat crescută (cel mult 3 mg/100 ml), dă întotdeauna o reacţie diazo indirectă, iar urina este lipsită de pigmenţi biliari.

Caracteristic pentru boala lui Gilbert este caracterul fluctuant al hiperbilirubinemiei şi mai ales faptul că nivelul bilirubinei creşte evident după o perioadă de restricţie calorică. De exemplu, după un post de 48 ore, nivelul bilirubinei serice se poate dubla, revenind apoi la valorile iniţiale în decurs de 24 de ore de la un prînz bogat în calorii. Nu există încă o explicaţie satisfăcătoare a acestui fenomen care este însă suficient de reproductibil spre a avea valoare diagnostică.

Întrucît bila acestor subiecţi conţine glicuronoconjugaţi ai bilirubinei, se poate exclude un defect major al procesului de glicuronoconjugare. Se bănuieşte că la baza acestei anomalii ar sta un defect în procesul de captare al bilirubinei indirecte de către hepatocite şi care se transmite genetic după un mecanism autosomal dominant. Dată fiind benignitatea ei, boala lui Gilbert nu necesită un tratament special. Recunoaşterea anomaliei are totuşi o importanţă practică spre a linişti pe subiecţii afectaţi care ajung să fie obsedaţi de gîndul că suferă de o hepatită cronică (30, 40, 42).

Sindromul Crigler-Najjar

Cazurile de icter nehemolitic familial, descrise în 1952 de Crigler şi Najjar (12), evoluau tot cu hiperbilirubinemie indirectă. Spre deosebire de subiecţii cu boala lui Gilbert, în sindromul Crigler-Najjar valorile bilirubinei neconjugate sînt mult mai ridicate (15—48 mg/100 ml), ceea ce poate duce la dezvoltarea unor leziuni grave în sistemul nervos central, afectînd în special scoarţa cerebrală şi cerebelul, precum şi nucleii bazali (icter nuclear). Dealtfel, o bună parte a cazurilor prezentînd această anomalie sucombă încă din primele 15 luni de viaţă. La copiii care supravieţuiesc, bilirubinemia se stabilizează la valori de 15—25 mg/100 ml, dar, de cele mai multe ori, se instalează manifestări neurologice cronice, caracterizate în special prin ataxie.

Bila acestor bolnavi are o culoare galben deschisă şi conţine doar mici cantităţi de bilirubină care este *neconjugată*. (Reamintim că în mod normal bilirubina din bilă este întotdeauna glicuronoconjugată). Aceste anomalii sugerează un defect major în procesul de glicuronoconjugare al bilirubinei, iar cercetări efectuate pe fragmente de ţesut hepatic, prelevate prin puncţie biopsie, confirmă deficitul de glicuroniltransferază (40). Există indicii că deficitul de glicuronoconjugare interesează nu numai bilirubina, dar şi alte substanţe care, în mod normal, se elimină sub formă de glicuronoconjugaţi, ca de exemplu mentolul, salicilaţii şi cloralhidratul (30, 40).

Defectul de glicuronoconjugare şi de eliminare pe cale biliară a bilirubinei conjugate este doar parţial compensat de eliminarea bilirubinei neconjugate prin mucoasa intestinală şi de degradarea bilirubinei spre compuşi hidrosolubili diazo negativi, care se elimină apoi prin scaun şi urină. Aceste căi alternative de metabolizare a bilirubinei

nu au fost încă pe deplin elucidate. Se pare însă că procesul are loc mai ales în piele şi că este stimulat de expunerea la lumină a bolnavului. Dealtfel, fototerapia, respectiv expunerea la o sursă artificială de lumină, constituie la ora actuală singurul mijloc prin care se poate încerca o reducere a bilirubinemiei la bolnavii cu sindrom Crigler-Najjar (30, 40).

Studiul familiilor prezentînd această anomalie pare să demonstreze că mecanismul de transmitere genetică este autosomal recesiv. Homozigoţii sînt total lipsiţi de glicuroniltransferază, în timp ce heterozigoţii au o capacitate de glicuronoconjugare de aproximativ 50% din valorile întîlnite la subiecţii neafectaţi. Această capacitate de glicuronoconjugare este însă suficientă pentru a preveni instalarea hiperbilirubinemiei.

Studiul deficitului genetic de glicuroniltransferază a fost facilitat prin descoperirea, de către Gunn, a unei varietăţi de şobolani albi prezentînd în mod spontan această anomalie şi la care se dezvoltă hiperbilirubinemie indirectă şi leziuni cerebrale similare cu cele întîlnite în sindromul Crigler-Najjar (41).

Hiperbilirubinemie prin defect parţial de glicuronoconjugare a bilirubinei (Sindrom Arias)

În ultimele două decenii s-au descris cazuri de hiperbilirubinemie indirectă familială nehemolitică, la care nivelul bilirubinei serice oscilează între 6—20 mg/100 ml, iar fenomenele neurologice lipsesc (3); spre deosebire de sindromul Crigler-Najjar în astfel de cazuri bila conţine o cantitate apreciabilă de bilirubină conjugată, care este însă în cantităţi semnificativ mai reduse decît la normali. S-a presupus deci că această hiperbilirubinemie indirectă de grad intermediar s-ar datora unui defect parţial în procesul de glicuronoconjugare, defect care este suficient de exprimat pentru a duce la apariţia icterului. Această ipoteză a fost verificată prin evidenţierea *in vitro* a deficitului de glicuronoconjugare a bilirubinei de către fragmentele de ţesut hepatic şi prin demonstrarea *in vivo* a unei capacităţi diminuate de a forma glicuronoconjugaţi de mentol, în urma ingestiei de 1 g mentol (40).

Se presupune că această boală genetică are un caracter autosomal dominant cu penetranţă incompletă. Există de asemenea indicii că la nivelul microsomilor hepatici acţionează mai multe glicuroniltransferaze cu specificitate relativă de substrat. S-ar putea deci ca sinteza acestor enzime să fie afectată în mod variabil explicîndu-se astfel existenţa defectului parţial de glicuronoconjugare.

De o deosebită importanţă teoretică este observaţia că administrarea de barbiturice (fenobarbital), care produc o proliferare a reticulului endoplasmatic neted în celulele hepatice, scade în mod evident nivelul bilirubinemiei în astfel de cazuri de deficit parţial al glicuronoconjugării. Atît fenobarbitalul cît şi alţi compuşi, ca de exemplu diclorfeniltricloretanul (cunoscut prin prescurtarea lui ca DDT), produc nu numai o

ameliorare a glicuronoconjugării bilirubinei dar şi a formării de glicuronoconjugaţi ai mentolului şi salicilatului (30, 48). S-a sugerat că aceste efecte s-ar datora inducerii de enzime microsomale inclusiv de glicuroniltransferază în celulele hepatice (19). De notat că la bolnavii cu sindrom Crigler-Najjar, precum şi la şobolanii homozigoţi din spiţa descrisă de Gunn la care glicuroniltransferaza lipseşte complet, administrarea de barbiturice nu este în măsură să restabilească procesul de glicuronoconjugare şi să scadă nivelul bilirubinei indirecte. În schimb, la heterozigoţi, barbituricele produc o creştere apreciabilă a activităţii glicuroniltransferazei. O oarecare ameliorare a sindromului icteric se constată după administrarea de fenobarbital şi în cazurile de boala lui Gilbert (40, 42). Este posibil ca în această afecţiune, barbitalul să stimuleze sinteza de proteine acceptoare (transportoare) de bilirubină la nivelul hepatocitelor.

Deşi mecanismele patogenice par să fie diferite, separarea pe plan clinic a sindromului Crigler-Najjar faţă de hiperbilirubinemie prin defect parţial de glicuronoconjugare, precum şi diferenţierea acesteia faţă de boala lui Gilbert întîmpină dificultăţi. De notat că în toate aceste afecţiuni creşte doar bilirubina neconjugată. Această particularitate poate fi evidenţiată mai ales prin metode cromatografice, în timp ce reacţia diazo poate indica şi prezenţa de cantităţi mai reduse de bilirubină directă. Se presupune că în astfel de cazuri cu hiperbilirubinemie neconjugată, o mică fracţiune a acestei bilirubine libere, anormal crescute, se solubilizează sub acţiunea unor substanţe prezente în mod normal în ser, ca de exemplu ureea şi acizii biliari, şi ajunge să dea reacţia diazo chiar şi fără adaus de alcool (30).

Sindromul Dubin-Johnson şi Sindromul Rotor

Spre deosebire de hiperbilirubinemiile neconjugate cu caracter familial amintite mai sus, în sindromul descris în 1954 de către Dubin şi Johnson (13), precum şi de către Sprinz şi Nelson (44), icterul se datoreşte, în primul rînd, creşterii bilirubinei conjugate. Aceasta ajunge la o proporţie de aproximativ 60% din totalul de 2,4—19 mg/100 ml. Hiperbilirubinemia conjugată se însoţeşte în mod evident de bilirubinurie, astfel că urina are, de cele mai multe ori, un aspect coluric.

Probele hepatice funcţionale sînt normale sau doar uşor modificate, iar fosfataza alcalină este uşor crescută în aproximativ 12% din cazuri. Aceste modificări abia schiţate contrastează cu intensitatea deosebită a icterului. Retenţia de bromsulfonftaleină (BSP) este la limita superioară a normalului sau doar uşor crescută (7—10% din colorant reţinut după 45 minute de la injectare). Ulterior, s-a putut preciza că deşi procesele de captare şi stocare hepatică precum şi glicuronoconjugarea colorantului decurg în mod normal, traversarea hepatică şi respectiv eliminarea pe cale biliară a BSP-ului glicuronoconjugat este perturbată. Ca urmare se ajunge la apariţia de BSP glicuronoconjugat în plasmă şi la eliminarea acestui compus

Tabel 10—3

Prezentare schematică a mecanismelor patogenice şi a particularităţilor în metabolismul pigmenţilor biliari în hiperbilirubinemiile cu caracter familial

	Mecanisme incriminate în producerea anomaliei	Comportarea pigmenţilor biliari	Alte particularităţi
Boala Gilbert	Deficit de captare a bilirubinei libere la nivelul hepatocitelor	Creşte bilirubina indirectă (2—3 mg/100 ml) Scaune normal colorate Urina fără pigmenţi biliari Icterul se accentuează după un regim hipocaloric	Lipsa semnelor de hemoliză (fier seric, reticulocite normale) Probe hepatice funcţionale normale.
Sindrom Crigler-Najjar	Deficit sever de glicuronoconjugare (lipsă de glicuroniltransferază)	Creştere severă a bilirubinei indirecte (15—48 mg/100 ml) creînd pericol de icter nuclear. Bila şi scaunul de aspect mai palid. Urina fără pigmenţi biliari.	Lipsa semnelor de hemoliză. Deficitul de glicuronoconjugare interesează şi alte substanţe (mentol, salicilaţi, clorhidrat). Probe hepatice normale.
Defect parţial de glicuronoconjugare	Activitate redusă a glicuroniltransferazei	Hiperbilirubinemie indirectă moderată, (6—20 mg/100 ml) scaun normal colorat; în urină pigmenţi negativi	Lipsa semnelor de hemoliză. Spre deosebire de sindromul Crigler-Najjar, administrarea de fenobarbital este în măsură să amelioreze deficitul enzimatic şi să scadă nivelul bilirubinemiei. Probe hepatice normale.
Sindrom Dubin-Johnson	Defect de eliminare în bilă a bilirubinei conjugate	Creştere a bilirubinei conjugate. Scaune normal colorate. În urină sînt prezenţii pigmenţii biliari.	Retenţia de BSP, la 45 min, este doar uşor crescută (7—10%). După 120 min, valorile BSP plasmatic depăşesc însă valorile notate la 45 min (reîntoarcerea în plasmă de BSP glicuronoconjugat). Probe hepatice normale. Acizii biliari nu sînt reţinuţi. Pruritul lipseşte.

prin urină. Această creştere secundară a colorantului în plasmă face ca nivelul plasmatic de BSP să fie mai crescut la 120 minute decît la 45 minute de la injectare (31).

Perturbarea eliminării pe cale biliară interesează şi alţi coloranţi cum sînt roz-bengalul şi verdele de indocianină. Este perturbată, de asemenea, eliminarea pe cale biliară a substanţelor iodate de contrast administrate pe cale orală, astfel încît vezica biliară nu poate fi evidenţiată pe colecistografie, deşi căile biliare sînt permeabile (30, 40, 42). Toate aceste observaţii sugerează că în sindromul Dubin-Johnson există un defect hepatocitar care interesează eliminarea activă pe cale biliară a diverşilor anioni organici. Acest defect nu afectează însă eliminarea acizilor biliari, iar bolnavii nu prezintă prurit (40, 42).

O altă particularitate a acestor subiecţi constă în acumularea hepatocitară a unui pigment de culoare închisă, PAS pozitiv care fixează unii coloranţi ai grăsimilor (Negru-Sudan şi Oil-red dar nu şi Sudan IV). Natura acestui pigment şi mecanismele care duc la acumularea lui nu sînt încă elucidate (30).

Manifestări umorale similare celor descrise în sindromul Dubin-Johnson, dar fără acumulare intrahepatică de pigment, au fost semnalate de Rotor şi colab. (cit. de Schmid). Întrucît acumularea de pigment nu apare în toate cazurile de sindrom Dubin-Johnson, existenţa unui aşa-zis „sindrom Rotor" este discutabilă (40). Recent autori japonezi (31) încearcă o diferenţiere a sindromului Dubin-Johnson faţă de sindromul Rotor pe baza testelor de clearance hepatic cu BSP şi verde de indocianină. După aceşti autori, în sindromul Rotor retenţia de BSP şi indocianină la 45 min. este mai exprimată (pînă la 50% retenţie), întrucît, în aceste cazuri, există nu atît un defect în faza finală de eliminare a colorantului dar mai ales o perturbare a proceselor de captare şi stocare. Alte caracteristici diferenţiale ale sindromului Rotor sînt colecistografia, de regulă pozitivă, şi eliminările crescute de porfirine. Merită subliniat faptul că anomaliile în metabolismul bilirubinei descrise la bolnavii cu sindrom Dubin-Johnson au fost semnalate la o varietate de oi din rasa Corriedale, ceea ce a facilitat abordarea pe cale experimentală a fiziopatologiei acestei anomalii; studiile de genetică indică un mecanism de transmitere autosomal dominant cu penetraţie variabilă (40).

În tabelul 10—3 sînt trecute în mod sinoptic datele privind hiperbilirubinemiile cu caracter genetic.

METABOLISMUL ACIZILOR BILIARI

Acizii biliari sînt componentul biliar cu cea mai bine cunoscută semnificaţie fiziologică. Aceşti „detergenţi biologici" asigură emulsionarea grăsimilor în lumenul intestinal şi facilitează astfel acţiunea lipazei pancreatice asupra trigliceridelor, favorizînd totodată solubili-

zarea produşilor de lipoliză şi deci absorbţia acizilor graşi şi a monogliceridelor. Absorbţia vitaminelor liposolubile şi a colesterolului este de asemenea condiţionată de prezenţa acizilor biliari în intestin. Pe de altă parte acizii biliari reprezintă principala modalitate de eliminare a colesterolului din organism.

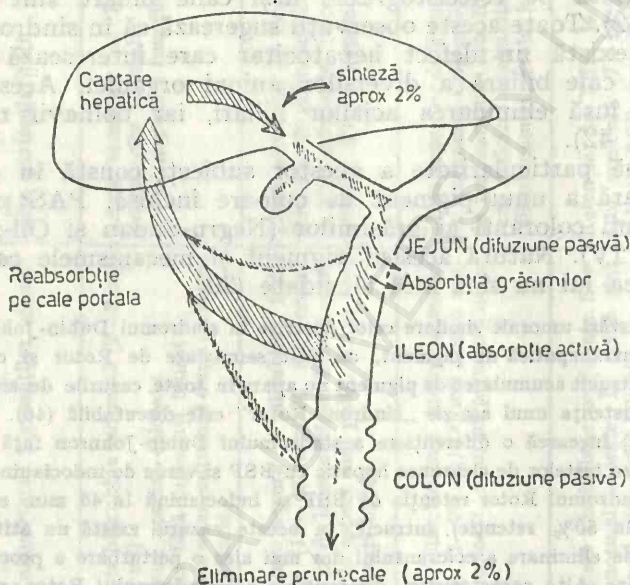


Fig. 10—4. Circuitul enterohepatic al acizilor biliari. Se poate vedea că cea mai mare parte a acizilor biliari secretaţi în bilă provin din reabsorbţie intestinală activă la nivelul ileonului; mici cantităţi de acizi biliari se absorb prin difuziune pasivă din jejun şi colon. Sinteza de acizi biliari reprezintă doar 2% din secreţie şi compensează pierderile prin fecale. După Dowling (14) modificată.

Este evident că acizii biliari pot forma săruri cu diverşi cationi. Măsura în care acizii biliari rămîn nedisociaţi sau formează săruri depinde de pH şi de constanta lor de disociere. Din acest motiv se pot folosi alternativ atît termenul de acizi biliari cît şi cel de săruri biliare (14).

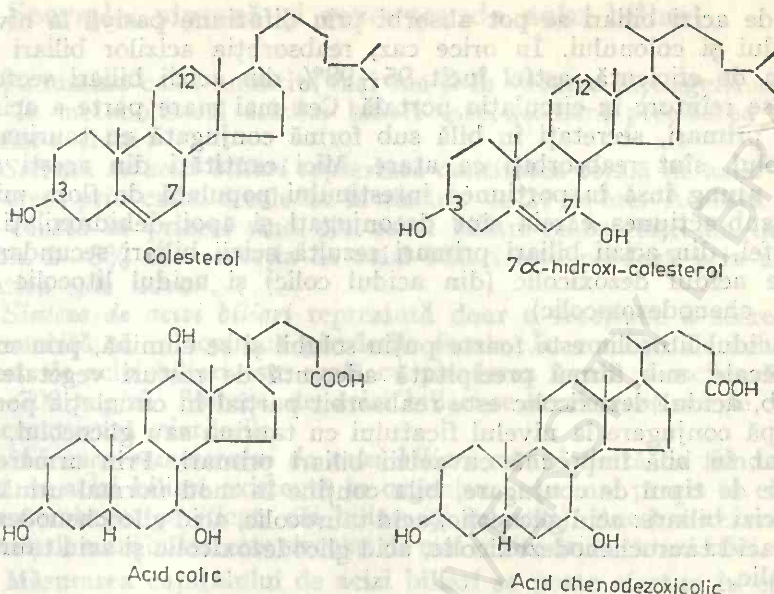


Fig. 10–5. Structura acizilor biliari primari: acidul colic (acid 3α, 7α, 12α trihidroxi-5β colanoic) și acidul chenodezoxicolic (acid 3α, 7α-dihidroxi-5β colanoic). Pentru comparație sînt trecute în figură și structura colesterolului, care constituie sursa de acizi biliari, și 7α-hidroxicolesterolul care reprezintă primul produs intermediar pe calea de sinteză a acizilor biliari. La nivelul grupării carboxil a acizilor biliari se produce o cuplare cu taurina sau glicocolul, prin legătura peptidică (–CO–NH).

Circuitul enterohepatic al acizilor biliari

Circulația enterohepatică a acizilor biliari este reprezentată schematic în fig. 10–4. Acizii biliari primari, acidul colic și chenodezoxicolic (vezi. fig. 10–5) sînt sintetizați în ficat din colesterol iar, după o prealabilă conjugare cu glicocolul sau taurina, sînt excretați de hepatocite în căile biliare, fiind stocați temporar și concentrați în vezica biliară. Ca răspuns la un prînz conținînd grăsimi, bila și implicit acizii biliari se varsă în intestin unde își exercită rolul mai sus amintit în procesul de digestie și absorbție a grăsimilor. Deși produșii de digestie ai grăsimilor sînt absorbiți în prima porțiune a intestinului subțire, reabsorbția sărurilor biliare are loc aproape exclusiv la nivelul ileonului (14, 52). Alături de mecanismul de absorbție, implicînd un proces de transport activ la nivelul ileonului, mici can-

tități de acizi biliari se pot absorbi prin difuziune pasivă la nivelul jejunului și colonului. În orice caz, reabsorbția acizilor biliari este extrem de eficientă, astfel încît 95—98% din acizii biliari secretați zilnic se reîntorc în circulația portală. Cea mai mare parte a acizilor biliari primari, secretați în bilă sub formă conjugată cu taurina sau glicocolul, sînt reabsorbiți ca atare. Mici cantități din acești acizi biliari ajung însă în porțiunea intestinului populată de flora microbiană sub acțiunea căreia sînt deconjugați și apoi dehidroxilați. În acest fel, din acizii biliari primari rezultă acizii biliari secundari, și anume acidul dezoxicolic (din acidul colic) și acidul litocolic (din acidul chenodezoxicolic).

Acidul litocolic este foarte puțin solubil și se elimină, prin materiile fecale, sub formă precipitată aderentă de resturi vegetale. În schimb, acidul dezoxicolic este reabsorbit parțial în circulația portală și, după conjugare la nivelul ficatului cu taurina sau glicocolul, este secretat în bilă împreună cu acizii biliari primari. Prin urmare, în funcție de tipul de conjugare, bila conține în mod normal următorii șase acizi biliari: acid glicocolic, acid taurocolic, acid glicochenodezoxicolic, acid taurochenodezoxicolic, acid glicodezoxicolic și acid taurodezoxicolic.

S-a calculat că aproximativ 300—700 mg acizi biliari se pierd zilnic prin fecale și această cantitate este reînnoită zilnic prin sinteză „de novo" de către hepatocite, astfel încît rezervorul (capitalul) de acizi biliari este menținut.

Deși ficatul este locul de sinteză al acizilor biliari, nu trebuie uitat că cea mai mare parte a acizilor biliari secretați de hepatocite în bilă sînt de fapt reabsorbiți din intestin și reajunși în ficat pe cale portală. Într-adevăr, celulele hepatice sînt prevăzute cu mecanisme extrem de eficiente de captare a acizilor biliari din vasele sanguine sinusoidale, care irigă ficatul. În acest fel, extracția taurocolatului din plasmă este de peste 90% în cursul unei singure treceri prin circulația hepatică. Eficiența acestei extracții explică valorile extrem de scăzute ale acizilor biliari în circulația generală (52). Traversarea hepatocitului și vărsarea acizilor biliari în canaliculele biliare implică de asemenea procese active, mediate probabil de proteine transportoare specifice, și care sînt diferite de proteinele transportoare, și, respectiv, mecanismele care asigură excreția bilirubinei și a altor anioni organici, ca de exemplu BSP (1, 24, 52). De remarcat că eficiența circuitului acizilor biliari este asigurată de mecanisme biologice implicînd receptori care acționează la nivelul mucoasei ileonului, la nivelul polului sanguin al hepatocitului și la nivelul polului biliar al acestuia.

Secreție, sinteză și rezervor de acizi biliari

În lumina celor amintite mai sus și în vederea înțelegerii anomaliilor în metabolismul acizilor biliari este necesară precizarea următoarelor noțiuni:

Secreția de acizi biliari reprezintă cantitatea totală de acizi biliari care trece prin canalul coledoc în decurs de 24 de ore. Această cantitate constă în primul rînd din acizii biliari reabsorbiți din intestin și abia 2—5% din secreția de acizi biliari este produsă prin sinteză hepatică „de novo".

Sinteza de acizi biliari reprezintă doar o fracțiune a secreției și este menită să înlocuiască pierderile fecale. În condiții de echilibru, sinteza de acizi biliari este egală cu pierderea fecală și oscilează între 300—700 mg/zi. Sinteza de acizi biliari se accelerează ori de cîte ori se accentuează pierderile.

Mărimea rezervorului de acizi biliari este definită ca fiind cantitatea de acizi biliari existentă în organism, sau mai precis în circulația enterohepatică (ficat, căi biliare și intestin). Acest rezervor (sau capital) de acizi biliari este circulat de mai multe ori în cursul zilei.

Măsurarea capitalului de acizi biliari se poate efectua în condiții clinice prin metode de diluție izotopică. După injectarea unei cantități cunoscute de acizi biliari marcați (de ex. ^{14}C acid colic sau ^{3}H acid chenodezoxicolic) se determină activitatea specifică a acizilor biliari, adică raportul între acizii biliari radioactivi și neradioactivi și se calculează totalul de acizi biliari existenți, adică mărimea rezervorului.

O metodă, aplicabilă în condiții experimentale, constă în canularea coledocului și măsurarea directă a acizilor biliari conținuți în circulația enterohepatică. Între aceste două metode nu există o concordanță perfectă, astfel încît valorile normale găsite de diverși autori pentru mărimea rezervorului de acizi biliari diferă. După Harper (23), aceasta ar fi de 3—5 g, după Sherlock (42) valorile ar oscila între 2—4 g iar Einarsson și colab. (16) găsesc valori de 1,5 g la normali și 2—3 g la subiecții cu hiperlipemie tip IV.

Numărul de cicluri enterohepatice pe 24 de ore se referă la frecvența golirii rezervorului de acizi liberi și a reabsorbției acestora din intestin și furnizează relații cu privire la viteza de circulație a capitalului de acizi biliari. În condiții de echilibru, secreția zilnică de acizi biliari este egală cu produsul între valoarea rezervorului (capitalului) de acizi biliari și numărul de cicluri enterohepatice. Acest număr variază în funcție de frecvența și felul alimentației. El ar fi de 2—4 g după Sherlock (42) și de 6—10 după Harper (23).

Pentru ilustrarea noţiunilor de mai sus considerăm utilă o exemplificare numerică imaginată după datele din literatură (14, 16). Un subiect prezintă o mărime a rezervorului (capitalul) de acizi biliari de 2000 mg iar acest capital este reciclat de 6 ori zilnic. În consecinţă, secreţia totală de acizi biliari va fi de 12 g/24 h. Din această cantitate, doar 400 mg este sintetizată „de novo" în ficat, ceea ce reprezintă 3,3% din secreţia totală şi corespunde pierderilor de acizi biliari prin materiile fecale.

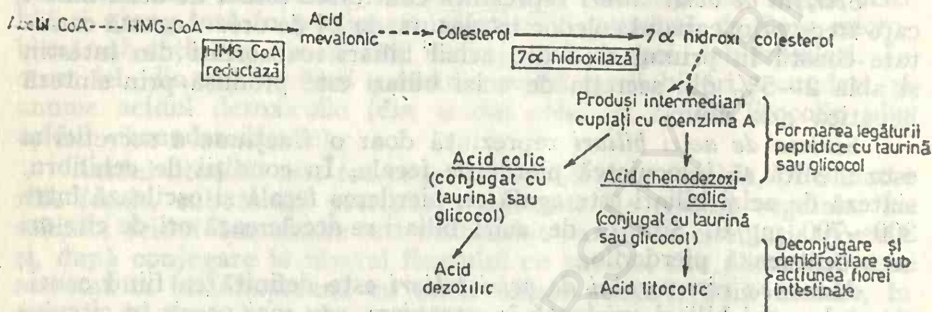


Fig. 10—6. Reprezentare schematică a sintezei şi metabolismului acizilor biliari HMG-CoA = β-hidroxi β-metil, glutaril-Coenzima A.

Mecanismul sintezei de acizi biliari

Aşa cum reiese din fig. 10—6, sinteza acizilor biliari primari are loc la nivelul ficatului pe seama colesterolului care, la rîndul său, este sintetizat din acetilcoenzima A. Enzima cheie în sinteza de colesterol este β-*hidroxi* β *metil, glutarilcoenzima A reductaza (HMG-CoA reductaza)*, iar viteza de sinteză a acizilor biliari depinde de activitatea enzimei *colesterol-7α-hidroxilază*. Produsul intermediar care rezultă din acţiunea acestei ultime enzime este colesterolul hidroxilat la carbonul 7 şi acest compus este transformat apoi, printr-o serie de reacţii, în acid colic (trihidroxilat) şi respectiv chenodezoxicolic (dihidroxilat) (vezi fig. 10—5, şi fig 10—6). În mod normal, sinteza de acid colic este dublă faţă de sinteza de acid chenodezoxicolic.

Sistemul enzimatic implicat în sinteza acizilor biliari este localizat în reticulul endoplasmatic al hepatocitelor şi necesită intervenţia citocromului P_{450}, a NADPH, a unei citocrom P_{450} reductaze (o flavoproteină), a unor compuşi tiolici (SH) şi a oxigenului molecular. În cursul sintezei lor, acizii biliari formează legături cu acetilcoenzima A, iar, ulterior, această legătură se desface, acizii biliari conjugîndu-se, printr-o legătură peptidică, cu glicocolul sau taurina. De regulă, raportul între acizii biliari conjugaţi cu glicocolul şi cei conjugaţi cu taurina este de 3 : 1 (8, 23). Acizii biliari astfel sintetizaţi intră în rezervorul

comun de acizi biliari împreună cu acizii biliari reabsorbiţi din intestin şi captaţi de hepatocite. Toţi aceşti acizi biliari sînt secretaţi apoi în canaliculele biliare printr-un mecanism de transport activ (52).

Reglarea sintezei de acizi biliari

Sinteza de acizi biliari are rolul de a compensa pierderile. Există dovezi că această sinteză se accelerează ori de cîte ori se accentuează pierderile. Aşa de exemplu, sinteza de acizi biliari creşte după drenajul bilei la exterior sau după administrarea de colestiramină (Questran, Cuemid), o răşină care fixează în intestin acizii biliari sub formă neabsorbabilă (14).

Pe de altă parte inaniţia se însoţeşte de o reducere a sintezei de acizi biliari. S-a observat şi o variaţie nictemerală a secreţiei şi sintezei de acizi biliari, care sînt mai accentuate în cursul nopţii (6).

Controlul sintezei de acizi biliari se exercită prin influenţarea activităţii enzimelor cheie ale sintezei de colesterol şi de acizi biliari. Cercetări *in vitro* au putut demonstra că atît activitatea HMG-CoA reductazei cît şi cea a colesterol-7α-hidroxilazei sînt crescute în microsomii izolaţi din ficatul şobolanilor care înainte de sacrificare fuseseră trataţi cu colestiramină sau li se drenase bila. Dimpotrivă inaniţia şi administrarea de acizi biliari deprimă activitatea ambelor enzime. Administrarea alimentară de colesterol inhibă HMG-CoA reductaza, dar creşte activitatea 7-α-hidroxilazei, iar tomatina (un glicozid steroidic) care inhibă absorbţia intestinală a colesterolului, dar nu şi pe cea a acizilor biliari, creşte activitatea HMG-CoA reductazei dar nu are efect asupra 7-α-hidroxilazei (6, 8).

Aceste date prezentate sintetic în fig. 10—7 şi tabelul 10—4 subliniază strînsa legătură funcţională între sinteza hepatică de colesterol şi producţia de acizi biliari, dar totodată arată că cele două procese enzimatice pot fi controlate prin mecanisme independente.

Întrucît creşterile reactive de HMG-CoA reductază şi colesterol 7-α-hidroxilază nu mai apar la animalele la care proteosinteza hepatică a fost inhibată cu cicloheximidă (8), se bănuieşte că modificarea activităţii acestor enzime este un rezultat al inducerii de enzimă adică al sintezei crescute de enzimă ca răspuns la diverşi agenţi inductori (sau mai degrabă al dereprimării, adică al creşterii sintezei de enzimă ca răspuns la absenţa unui corepresor care, în cazul de faţă, este reprezentat de însăşi acizii biliari). O dovadă indirectă privind inductibilitatea HMG-CoA reductazei şi colesterol-7α-hidroxilazei este furnizată de observaţiile privind creşterea activităţii ambelor enzime după

administrarea de fenobarbital, un binecunoscut agent inductor de enzime (19, 51).

În ultimii ani s-au efectuat și cercetări cu privire la reglarea hormonală a sintezei de acizi biliari. S-a arătat că tiroidectomia reduce activitatea colesterol-7α-hidroxilazei, iar administrarea de tiroxină potențează efectul stimulant al depleției produse de colestiramină și accentuează sinteza de acizi biliari. Deși hormonii tiroidieni accelerează și sinteza de colesterol, efectul de transformare al acestuia în acizi biliari predomină astfel încît rezultatul final este o scădere a colesterolemiei (vezi și vol. I pag. 231). S-a precizat de asemenea că sinteza de acizi biliari este stimulată de hidrocortizon și deprimată de suprarenalectomie (6).

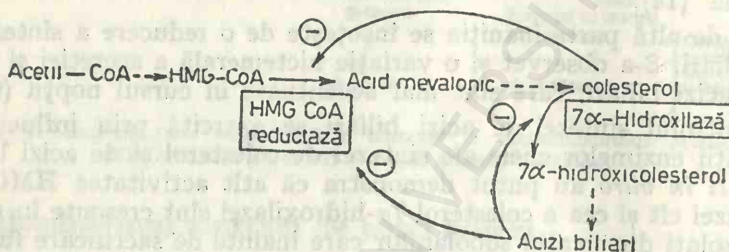


Fig. 10—7. Reglarea sintezei de acizi biliari cuplată cu reglarea sintezei de colesterol. Semnul ⊖ înseamnă inhibare (feed-back negativ) (după Balasubramaniam și colab. (6).

Efectul diferitelor procedee experimentale asupra activității HMG-CoA-reductazei și coles
crește rezervorul (capi

	Administrarea de colestiramină sau drenaj biliar	Inaniție	Administrare de colesterol
HMG-CoA-reductază	crește	scade	scade
Colesterol-7-α-hidroxilază	crește	scade	crește

Acizii biliari și fluxul biliar apos

Alături de pigmenții biliari și de acizii biliari, bila conține colesterol, fosfolipide, mici cantități de proteine (între care amintim unele mucoproteine și fosfataza alcalină) și bineînțeles săruri anorganice.

Tot prin bilă se elimină unii metaboliţi ai hormonilor steroizi şi tiroidieni precum şi medicamente, coloranţi, şi diverse alte substanţe chimice ingerate cu alimentele (conservanţi, substanţe chimice cu rol în îndulcirea băuturilor, aşa cum sînt ciclamaţii etc.). Menţinerea tuturor acestor componenţi ai bilei în suspensie şi curgerea lor prin arborele biliar (vezi fig. 10—8) este condiţionată de formarea unui flux biliar apos. De fapt apa reprezintă 97% din bila hepatică şi 86% din bila concentrată în vezica biliară (23). Deplasarea apei în canaliculele biliare este în mare măsură independentă de presiunea hidrostatică, iar bila continuă să curgă prin canaliculi şi atunci cînd presiunea din coledoc e mai mare decît în capilarele sanguine sinusoidale care irigă ficatul. În consecinţă, în condiţii fiziologice, formarea fluxului biliar depinde mai ales de gradienţii osmotici (24). Dată fiind excelenta corelaţie care există între secreţia de acizi biliari şi volumul secreţiei biliare, se poate vorbi de un *flux apos biliar dependent de acizii biliari*. În urma depleţiei rezervorului de acizi biliari, curgerea bilei diminuă, dar nu încetează cu desăvîrşire. Acest fenomen sugerează existenţa unei *fracţiuni a fluxului biliar independentă de acizii biliari*. Formarea acestei fracţiuni pare a fi legată de transportul activ de sodiu şi implică consum de energie şi intervenţia unei molecule proteice cu rol de transportor. Întrucît teofilina, un inhibitor al fosfodiesterazei, produce o stimulare a secreţiei biliare, se pare că fluxul biliar este dependent şi de acumularea intracelulară de 3'-5'-AMP ciclic, rezultat din acţiunea adenilciclazei asupra ATP-ului (vezi pag. 269).

Tabel 10—4

terol-7α-hidroxilazei. De notat că administrarea de acizi biliari scade sinteza acestora dar talul) de acizi biliari.

Administrare de acizi biliari	Phenobarbital	Tomatină	Hidrocortizon	Tiroxină
scade	creşte	creşte	creşte	creşte lent
scade	creşte	nemodificată	creşte	creşte rapid

Acizii biliari intervin nu numai în generarea fluxului biliar apos, dar şi în menţinerea în suspensie a lipidelor eliminate prin bilă. Această stabilizare se realizează prin formarea unor complexe macromoleculare denumite micelii, care includ, alături de acizii biliari, colesterol şi fosfolipide (vezi fig. 10—9).

În timp ce greutatea moleculară a acizilor biliari (de exemplu acid chenodezoxicolic) este de 472 daltoni, greutatea particulelor micelare poate ajunge la 11.000—75.000 daltoni (2, 14, 42). Este evident că activitatea osmotică, care depinde de numărul de particule, va fi mai mică atunci cînd acizii biliari formează micelii. Această proprietate intervine în reglarea presiunii osmotice a secreţiei biliare şi implicit în reglarea fluxului (debitului) biliar (24, 42). Scăderea raportului între acizii biliari şi colesterol în bilă favorizează precipitarea colesterolului şi formarea calculilor biliari (vezi pag. 202).

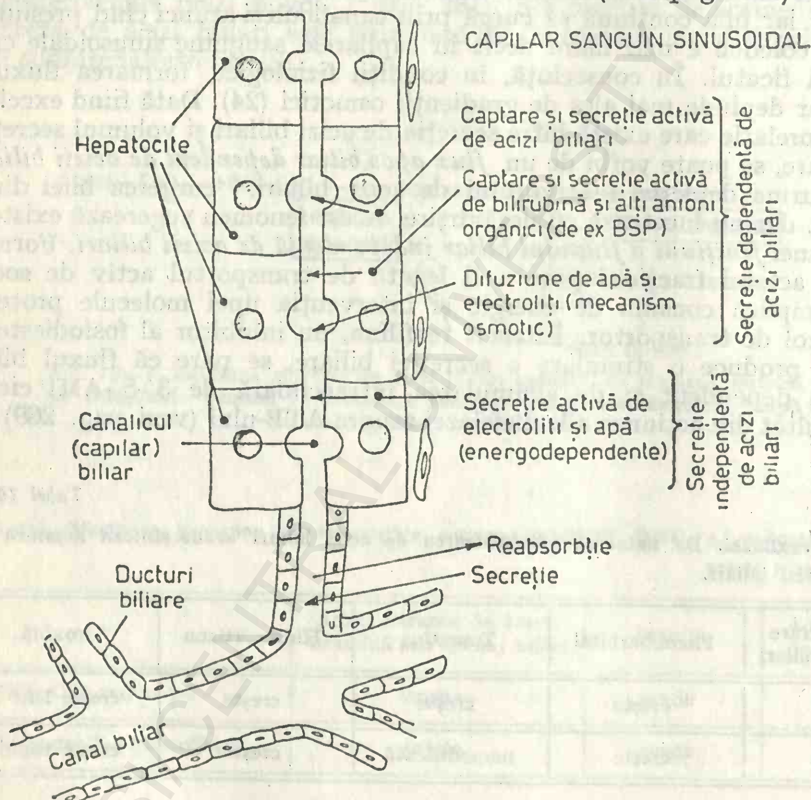


Fig. 10—8. Mecanisme de formare a bilei. De notat că secreţia activă de bilirubină şi BSP se face prin alte mecanisme (şi respectiv prin intervenţia altor proteine transportoare) decît secreţia de acizi biliari. Întrucît acizii biliari asigură în bună parte formarea fluxului apos şi drenarea tuturor anionilor secretaţi în canaliculul biliar perturbarea eliminării acizilor biliari se repercută, în ultimă instanţă şi asupra altor componente ale bilei. Curgerea bilei prin ducturile biliare este reglată de către secretină, iar contracţia vezicii biliare de către colecistokinină.

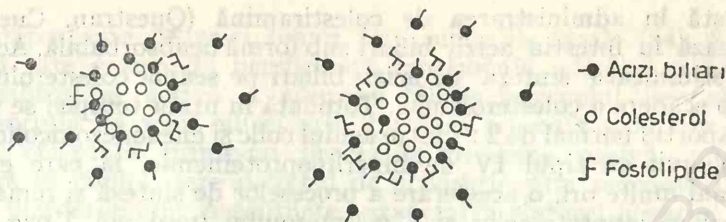


Fig. 10—9. Structura miceliilor din bilă. Colesterolul insolubil în mediu apos este menținut în suspensie de un strat protector de acizi biliari și fosfolipide.

Anomalii ale metabolismului acizilor biliari și implicații în patologia clinică

Pe baza datelor amintite mai sus este de așteptat ca anomaliile de metabolism ale acizilor biliari să se repercute în domenii variate ale patologiei. Într-adevăr cercetări clinice și de laborator, facilitate în ultimii ani de posibilitățile de dozare precisă și diferențiată a acizilor biliari, au demonstrat rolul acestora în patogeneza sindroamelor de malabsorbție, a hiperlipemiilor, a litiazei biliare, a colestazei intrahepatice și a hiperoxaluriei. În cele ce urmează vom exemplifica pe scurt cîteva din mecanismele patogenetice în care intervin anomalii ale metabolismului acizilor biliari.

Acizii biliari și metabolismul lipidic

Așa cum s-a mai arătat (vezi pag. 189) digestia și absorbția grăsimilor este condiționată de prezența acizilor biliari în lumenul intestinal. Pe de altă parte, acizii biliari reprezintă produsul final de catabolizare a colesterolului și constituie astfel principala modalitate de eliminare a acestuia din organism (23). Deși între sinteza hepatică de colesterol (catalizată de HMG-CoA reductază) și cea de acizi biliari (controlată de colesterol-7α-hidroxilază) există o strînsă relație funcțională, cele două sisteme enzimatice pot ajunge la decalaje care se repercută asupra nivelului colesterolemiei (8, 51).

Este interesant de remarcat că în hipercolesterolemia pură (hiperlipoproteinemie tip II), în care există un defect de catabolizare a β-lipoproteinelor și de îndepărtare a colesterolului din organism (vezi vol. I pag. 244), sinteza de acid colic este mai scăzută decît la normali, fiind parțial compensată de o creștere a producției de acid chenodezoxicolic (16). Tratamentul de elecție al acestui tip de hiperlipe-

mie constă în administrarea de colestiramină (Questran, Cuemid), care fixează în intestin acizii biliari sub formă neabsorbabilă. Această terapie stimulează sinteza de acizi biliari pe seama colesterolului şi duce la o scădere a colesterolemiei. Totodată în urma terapiei se restabileşte raportul normal de 2 : 1 între acidul colic şi chenodezoxicolic (17).

La bolnavii cu tipul IV de hiperlipoproteinemie, la care există, de cele mai multe ori, o accelerare a proceselor de sinteză şi remaniere (turnover) a lipoproteinelor şi a colesterolului (vezi vol. I pag. 247), rezervorul de acizi biliari este crescut iar sinteza acestora şi în special a acidului colic este accelerată (16). Producţia de acizi biliari se corelează cu greutatea corporală şi cu nivelul trigliceridelor serice şi are tendinţa de revenire la normal prin slăbire (16) şi în urma tratamentului cu clofibrat (15).

Deşi în hiperlipemia de tip IV sinteza de acizi biliari pe seama colesterolului este accelerată, nivelul colesterolemiei este mai adeseori ridicat (deşi nu atît de mult ca în tipul II). Acest fenomen poate fi explicat prin aceea că sinteza de colesterol este încă şi mai accelerată şi depăşeşte capacitatea de transformare a colesterolului în acizi biliari. În schimb, în hipertiroidism, activarea concomitentă a HMG-CoA reductazei şi colesterol-7α-hidroxilazei pare să intereseze cu predominanţă ultima enzimă, ajungîndu-se astfel la scăderi ale colesterolemiei (vezi vol. I pag. 232).

Merită menţionate aici observaţiile lui Dowling (14) privind dinamica secreţiei de acizi biliari la maimuţe, în urma alimentaţiei cu diverse tipuri de grăsimi. S-a putut arăta astfel că grăsimile polinesaturate (oleu de porumb) produc o creştere a fluxului biliar şi a secreţiei zilnice de acizi biliari, mai exprimată decît în cazul alimentaţiei cu grăsimi saturate sau mononesaturate. Această amplificare a secreţiei se realizează printr-o creştere a numărului de cicluri enterohepatice. Drept consecinţă o mai mare cantitate de acizi biliari se pierde prin fecale (fiecare ciclu implică o oarecare pierdere), iar această pierdere este înlocuită de o creştere a sintezei de acizi biliari pe seama colesterolului. Se poate sugera deci, că acţiunea hipocolesterolemiantă a grăsimilor polinesaturate s-ar exercita, cel puţin în parte, printr-o accelerare a circuitului enterohepatic al acizilor biliari. O alimentaţie bogată în celuloză nedigestibilă (pîinea neagră, varză, fasole) intervine ca un mecanism hipocolesterolemiant adjuvant, contribuind la fixarea acizilor biliari pe resturile vegetale şi la creşterea eliminării lor cu bolul fecal. De notat că după o astfel de alimentaţie, materiile fecale sînt mai voluminoase şi mai moi, iar tranzitul prin intestinul gros este mai accelerat.

Efecte patologice ale întreruperii circuitului enterohepatic al acizilor biliari

Întrucît reabsorbţia acizilor biliari are loc la nivelul ileonului, printr-un mecanism biologic activ, bolile ileonului, însoţite de atrofia mucoasei intestinale şi mai ales rezecţia de ileon, pot duce la pier-

deri importante de acizi biliari prin materiile fecale (14). S-au descris şi rare cazuri de insuficienţă funcţională selectivă a procesului de reabsorbţie activă a sărurilor biliare la nivelul ileonului (47). Reabsorbţia de acizi biliari prin mucoasa jejunală şi la nivelul colonului, efectuată printr-un proces de difuziune pasivă, nu este în măsură să compenseze defectul de absorbţie prin mucoasa ileonului. Dacă pierderile sînt accentuate, exagerarea sintezei hepatice de acizi biliari nu este nici ea capabilă să refacă aceste pierderi, astfel încît se ajunge la o diminuare progresivă a rezervorului de acizi biliari. În depleţia severă de acizi biliari se produc perturbări în absorbţia grăsimilor şi steatoree. Pe de altă parte, acizii biliari neabsorbiţi în ileon şi ajunşi în colon, exercită un efect osmotic şi excită peristaltismul producînd diarei apoase (42). În ciuda acestor fenomene,

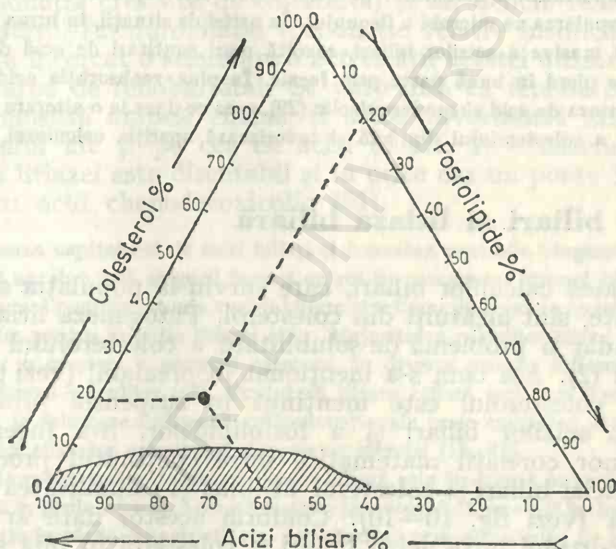


Fig. 10—10. Utilizarea diagramelor de coordonate triunghiulare pentru reprezentarea conţinutului în colesterol, fosfolipide şi acizi biliari din bilă. Concentraţia fiecărui component în mmoli/l este exprimată ca un procent din total. (Total = mmoli acizi biliari + mmoli colesterol + mmoli fosfolipide). Zona haşurată de la baza triunghiului reprezintă proporţii ale amestecului în care colesterolul este menţinut într-o soluţie micelară clară. Punctul reprezentat de o concentraţie procentuală (procent din total) de 20% colesterol, 20% fosfolipide şi 60% acizi biliari va cădea în afara zonei proporţiilor optime. Într-o astfel de situaţie, colesterolul are tendinţa de a ieşi din soluţie formînd cristale şi favorizînd apariţia calculilor biliari (după Admirand şi Small (2).

absorbţia oxalatului la nivelul colonului pare a fi stimulată în astfel de condiţii, şi din acest motiv, în majoritatea cazurilor de malabsorbţie prin mucoasa ileonului, se ajunge la hiperoxalurie şi adeseori la formarea de calculi urinari (14). Diagnosticul malabsorbţiei acizilor biliari este facilitat de testul cu^{14} C-colilglicină (acid glicocolic marcat cu carbon radioactiv). Dacă după administrarea a 10 μCi din acidul biliar marcat, radioactivitatea materiilor fecale, colectate pe timp de 24 ore, depăşeşte 8% din doza administrată, se poate bănui existenţa unei malabsorbţii de acizi biliari (47).

Deşi sinteza de acizi biliari nu reprezintă decît o fracţiune a secreţiei acestora (vezi pag. 193), insuficienţele hepatice cronice pot cauza şi ele o depleţie în acizi biliari, fenomen constatat în special la bolnavii hepatici care prezintă steatoree (42).

O cauză importantă a deficitului de acizi biliari este reprezentată de proliferarea microbiană şi popularea cu microbi a ileonului. În astfel de situaţii, în urma deconjugării şi dehidroxilării masive a acizilor biliari, rezultă mari cantităţi de acid dezoxicolic şi litocolic, care se pierd în bună parte prin fecale. În plus, reabsorbţia acidului dezoxicolic reprimă sinteza de acid chenodezoxicolic (29), ceea ce duce la o alterare a capacităţii de solubilizare a colesterolului din bilă şi favorizează apariţia calculozei (29, 42, 51)

Acizii biliari şi litiaza biliară

Majoritatea calculilor biliari, care survin la populaţia societăţilor industrializate, sînt alcătuiţi din colesterol. Patogeneza litiazei biliare pare a fi aşadar o problemă de solubilitate a colesterolului în mediul apos al bilei (2). Aşa cum s-a menţionat în prealabil (vezi pag. 193 şi fig. 10–9), colesterolul este menţinut în suspensie prin acţiunea detergentă a acizilor biliari şi a fosfolipidelor. S-a încercat chiar stabilirea unor corelaţii matematice între conţinutul procentual de fosfolipide, acizi biliari şi colesterol al bilei şi solubilitatea colesterolului în bilă (vezi fig. 10–10). Conform acestor date ar trebui ca scăderea raportului între acizii biliari şi colesterol în bilă să ducă la formarea unei bile „litogenice" suprasaturată în colesterol. Cercetări clinice şi de laborator par să confirme acest punct de vedere. Pe de-o parte, s-a arătat că bolnavii cu litiază biliară prezintă un rezervor (capital) diminuat de acizi biliari, secreţia biliară fiind compensată de un număr crescut de circuite enterohepatice (29, 50). Pe de altă parte, incidenţa litiazei pare a fi crescută la bolnavii cu disfuncţii ale ileonului, la care rezervorul de acizi biliari este diminuat în mod secundar suferinţei intestinale (14). S-ar părea deci că reducerea capitalului de acizi biliari constituie o importantă verigă patogenetică în dezvoltarea unei bile suprasaturate în colesterol şi în apariţia litiazei

biliare. Această ipoteză şi-a găsit o strălucită confirmare în practica clinică în urma cercetărilor după care administarea de acid chenodeoxicolic (0,75—1,5 g/zi) şi mărirea consecutivă a rezervorului de acizi biliari duce la dizolvarea calculilor biliari. Efectele sînt deosebit de evidente în cazul calculilor biliari multipli, de dimensiuni reduse şi încă necalcificaţi (7, 14). S-ar părea că acidul chenodezoxicolic acţionează nu numai prin mărirea capitalului de acizi biliari, dar şi prin reducerea producţiei de colesterol hepatic. Acest ultim efect ar putea fi datorat faptului că acidul chenodezoxicolic produce o inhibare (feed-back negativ) mai accentuată a HMG-CoA reductazei decît a colesterol-7α--hidroxilazei (29, 51).

Pornindu-se de la ipoteza că în ficatul bolnavilor cu litiază biliară ar exista o discrepanţă între activitatea crescută a HMG-CoA reductazei (producţia crescută de colesterol) şi un deficit relativ al activităţii colesterol-7α-hidroxilazei (producţie relativ insuficientă de acizi biliari), s-a încercat o stimulare a activităţii acestei ultime enzime prin administrarea de fenobarbital. Se pare însă că fenobarbitalul induce în egală măsură ambele enzime şi astfel favorizează atît producerea de colesterol cît şi pe cea de acizi biliari. În consecinţă, rolul său în terapia litiazei este discutabil şi în orice caz nu poate înlocui tratamentul cu acid chenodezoxicolic (51).

Reducerea capitalului de acizi biliari şi formarea unei bile litogenice suprasaturate în colesterol nu sînt însă singurii factori cu rol în patogeneza litiazei biliare. Se ştie că obezitatea, sexul feminin, atonia vezicii biliare şi inflamaţia acesteia constituie importanţi factori de risc pentru apariţia litiazei (42). Majoritatea calculilor biliari conţin şi mucoproteine, iar o creştere a secreţiei acestora, în diverse procese inflamatorii, ar putea precede formarea calculilor (42). Faptul că litiaza biliară este mai frecventă la femei, şi în special la cele care utilizează anticoncepţionale orale conţinînd estrogeni, se datoreşte probabil efectelor colestatice ale acestor steroizi (18, 42).

Este de menţionat şi faptul că litiaza biliară este frecventă în ţările industrializate şi foarte rară în ţările Africii. Această distribuţie geografică pare a fi în legătură cu modul de alimentaţie în ţările industrializate, caracterizat prin abundenţa de calorii şi grăsimi saturate şi prin conţinutul mai redus de reziduuri vegetale. Modul de viaţă industrializat nu pare a fi însă un factor esenţial, întrucît incidenţa maximă a litiazei biliare se constată la femeile aparţinînd unor triburi de indieni din America de Nord (42).

Acizii biliari şi colestaza

Din punct de vedere fiziopatologic colestaza poate fi definită ca o perturbare în procesul de formare şi curgere al bilei şi implică o diminuare a debitului biliar. Această perturbare poate surveni la

diverse nivele, începînd de la microsomii hepatocitelor și pînă la nivelul duodenului.

În cazul *colestazelor extrahepatice* (calcul în căile biliare, neoplasm de cap de pancreas, coledocită scleroasă) mecanismul patogenic este relativ simplu și constă în îngustarea sau obstrucția mecanică a căilor biliare extrahepatice. Manifestările patologice observate în astfel de cazuri se datoresc, pe de o parte, lipsei bilei în intestin iar, pe de altă parte, retenției în organism a compușilor eliminați în mod normal prin bilă. Lipsa acizilor biliari în intestin se repercută negativ asupra digestiei grăsimilor, ceea ce duce la steatoree, iar perturbarea absorbției vitaminelor liposolubile duce la osteoporoză (lipsă de vitamina D), hemeralopie (scăderea adaptabilității vederii la semiobscuritate, cauzată de lipsa vitaminei A) și tulburări de coagulare (deficit de vitamina K).

Retenția acizilor biliari duce la creșterea acestora în sînge la valori care pot depăși de 100 de ori valorile normale de aproximativ 1 µg/ml, iar difuzarea lor în țesuturi și iritarea filetelor nervoase din tegumente pare a fi cauza pruritului prezentat de bolnavii cu fenomene de colestază. Cu timpul acizii biliari reținuți exercită un efect nociv asupra hepatocitelor, ducînd la insuficiență hepatică. De remarcat că instalarea insuficienței hepatice este însoțită de o diminuare marcată a sintezei de acizi biliari, iar pruritul cedează (42). Alături de aceste manifestări legate de perturbarea circuitului normal al acizilor biliari, în colestazele extrahepatice se întîlnește întotdeauna o hiperbilirubinemie conjugată cu urină colurică și, adeseori, cu scaune decolorate. Se constată de asemenea o retenție de colesterol liber și de fosfolipide și o creștere a enzimelor de colestază (vezi pag. 182).

Patogeneza *colestazelor intrahepatice* este mai complicată și în orice caz mai puțin elucidată. În unele cazuri, examenul anatomopatologic evidențiază leziuni inflamatorii sclerozante ale căilor biliare intrahepatice (ducturi biliare intralobulare și septale), realizînd aspectul de hepatită colangiolitică și evoluînd spre ciroză biliară. Se consideră că în patogeneza acestei afecțiuni, evoluînd cu colestază, intervine un mecanism autoimun, iar examinările de laborator evidențiază adeseori prezența anticorpilor antimitocondriali (42). Se ridică însă problema dacă leziunile căilor biliare intrahepatice nu sînt cumva secundare unor anomalii de metabolism, survenind în mod primar la nivelul hepatocitelor și interesînd cu predominanță economia acizilor biliari. Pe de altă parte s-au descris cazuri de colestază intrahepatică exprimată, la care leziunile ducturilor biliare, abia schițate, nu sînt în măsură să explice fenomenele de colestază. În ultimii ani, s-au acumulat o serie de date care sprijină conceptul de colestază funcțională indusă metabolic. Așa, de exemplu, estrogenii

(în speţă etilestradiolul) produc o creştere a permeabilităţii canaliculelor biliare şi duc la apariţia fenomenelor de colestază la şobolan (18), iar aceste constatări îşi găsesc un corespondent clinic în colestaza care apare la unele femei în ultimul trimestru de graviditate sau după folosirea de anticoncepţionale orale (42). Întrucît aceste manifestări apar doar la un mic număr de cazuri din milioanele de femei care nasc sau care folosesc anticoncepţionale orale steroidice, se bănuieşte o susceptibilitate particulară cu caracter genetic. Dealtfel, aceleaşi femei ajung să prezinte fenomene de colestază şi după ingerarea preparatelor de testosteron substituit la carbonul 17 (de exemplu 17-metiltestosteron). Manifestări de colestază apar în unele cazuri şi după clorpromazină (42) şi au fost interpretate atît pe baza unei hipersensibilizări cît şi prin perturbarea, de către acest derivat fenotiazinic, a formării miceliilor în canaliculele biliare. Colestaza poate fi provocată la animalele de experienţă prin administrarea de α-naftil-izotiocianat (ANIT), o substanţă care diminuă activitatea enzimelor microsomale (37). Deosebit de semnificative sînt observaţiile privind efectele colestatice ale acizilor biliari monohidroxilaţi şi în special ale acidului litocolic (25). Corelate cu datele privind colestaza indusă de ANIT, aceste observaţii pot sugera că deficitul proceselor de hidroxilare la nivel microsomal ar putea duce la apariţia unor acizi biliari incomplet hidroxilaţi (de exemplu acid litocolic), care perturbă procesul de formare a miceliilor în canaliculele biliare sau chiar în hepatocite. Lezarea celulelor hepatice prin acest mecanism deprimă şi mai mult procesele de hidroxilare a acizilor biliari şi duce la acumularea de noi cantităţi de acid litocolic. Se instalează, în acest fel, un cerc vicios care duce la perpetuarea procesului.

Ilustrative pentru mecanismele colestazei funcţionale sînt observaţiile privind *colestaza intrahepatică progresivă* (boala lui Byler), o afecţiune cu caracter genetic, care apare în prima copilărie şi evoluează spre deces înaintea vîrstei de 8 ani. Mecanismul patogenetic al acestei boli, caracterizată prin steatoree, hepatomegalie, hipotrofie staturală, rahitism şi prurit intens, pare a fi reprezentat de un defect genetic de sinteză al unei proteine hepatice transportoare necesară pentru transferul acizilor biliari din hepatocite în canaliculele biliare (28). Este remarcabil faptul că această boală poate evolua luni de zile fără icter. Aceasta dovedeşte că proteina (şi respectiv mecanismul) care asigură transportul acizilor biliari prin membrana canaliculelor biliare diferă de proteina necesară pentru transferul bilirubinei conjugate (24).

Dealtfel, în sindromul Dubin-Johnson (vezi pag. 187), caracterizat prin deficit de transfer canalicular a bilirubinei conjugate, secreţia acizilor biliari decurge normal. Independenţa acestor două sisteme

de transport este însă limitată în cursul proceselor de colestază. De fapt perturbarea gravă a secreției acizilor biliari duce la diminuarea fluxului biliar apos și limitează astfel „spălarea" bilirubinei din canaliculele biliare și curgerea ei în arborele biliar. În consecință, orice colestază severă va evolua în cele din urmă cu hiperbilirubinemie conjugată, chiar dacă inițial nu a existat o perturbare a transportului bilirubinei (24).

Pe baza datelor relatate mai sus se pot intrevedea următoarele mecanisme care ar putea interveni în producerea colestazei intrahepatice: a) defecte genetice sau cîștigate în sinteza unor proteine acceptoare care intervine în captarea, stocarea și secreția acizilor biliari; b) deficit în procesele care generează energia necesară transportului activ de acizi biliari (procese ATP-dependente); c) modificări de permeabilitate ale canaliculelor biliare care în mod normal limitează difuziunea anarhică a moleculelor secretate activ; creșterea acestei permeabilități și infiltrarea acizilor biliari în țesuturile înconjurătoare ar stînjeni astfel formarea fluxului biliar apos; d) anomalii metabolice în procesul de formare al acizilor biliari care se repercută asupra fluxului biliar canalicular; e) anomalii în procesul de formare al miceliilor de acizi biliari, fosfolipide și colesterol; f) perturbarea proceselor care duc la elaborarea fluxului biliar independent de acizii biliari.

Trebuie să recunoaștem că pînă în prezent aceste mecanisme, în mare parte ipotetice, nu au fost încă suficient verificate și nici integrate într-o concepție sintetică și coerentă.

Aceeași incertitudine mai persistă încă și cu privire la comportarea funcției proteosintetice a ficatului în colestază. Acțiunea toxică a acizilor biliari reținuți și deprimarea proceselor energogenetice (scăderea ATP), precum și deficitul de hidroxilare al acizilor biliari la nivel microsomal, ar sugera o deprimare a proteosintezei hepatice. Deși reticulul endoplasmatic, la nivelul căruia are loc sinteza de proteine, apare hipertrofiat, această hipertrofie a fost interpretată ca fiind hipofuncțională (37). Acest punct de vedere este confirmat de scăderea albuminelor serice și a pseudocolinesterazei în cazurile de colestază prelungită.

Pe de altă parte, în cursul colestazei crește nu numai fosfataza alcalină, produsă de epiteliile căilor biliare, dar și γ-glutamiltransferaza, produsă la nivelul microsomilor hepatocitelor (vezi vol. I pag. 121). Această creștere nu poate fi interpretată doar ca un proces de retenție, ci pare a fi rezultatul unei inducții microsomale, adică al unei sinteze accelerate de enzimă. În sindroamele colestatice se constată, dealtfel, și o creștere a ceruloplasminei, haptoglobinei (43) și antiplasminei (42), iar factorii coagulării apar crescuți în numeroase cazuri de colestază (10), bineînțeles dacă fluxul biliar nu este complet întrerupt și nu apare un deficit de vitamina K. Aceste observații contrastează cu deprimarea globală a sintezei de proteine hepatice în cirozele portale decompensate.

Se poate afirma deci că în colestaze există un tip particular de proteosinteză hepatică. Merită amintite şi încercările de a influenţa colestaza şi respectiv de a creşte fluxul biliar prin inducerea de enzime microsomale cu ajutorul fenobarbitalului (9, 19, 46).

Anomalii ale lipoproteinelor serice în colestază

Aşa cum s-a mai arătat (vezi pag. 199), colesterolul neesterificat se elimină pe cale biliară, iar menţinerea lui în suspensie în bilă este asigurată de formarea unor micelii cu fosfolipidele şi acizii biliari. Refluarea bilei, şi respectiv a lipidelor biliare în sînge, se însoţeşte de apariţia în plasmă a unei lipoproteine specifice colestazei, aşa-numita lipoproteină X (Lp X). Această lipoproteină este alcătuită în special din fosfolipide (65%) şi colesterol liber (23%), conţinînd doar urme de acizi biliari ; componenta proteică, constituind aproximativ 6% din complex, este reprezentată în primul rînd de albumina serică şi de mici cantităţi de apoproteină C, provenită prin transfer din pre β lipoprotei-

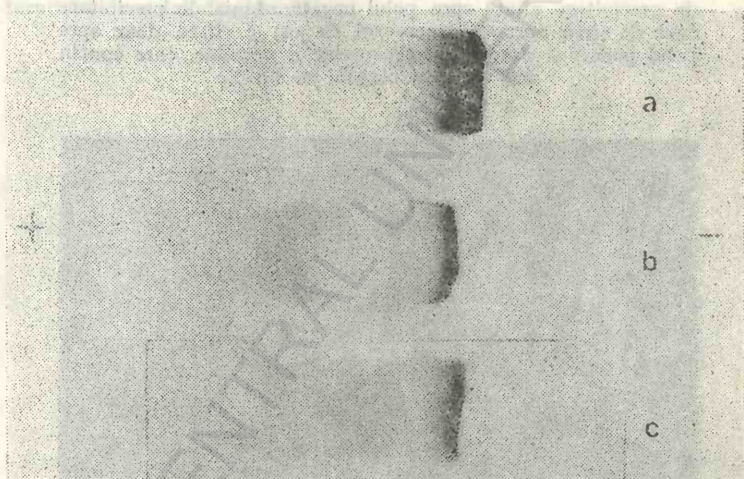
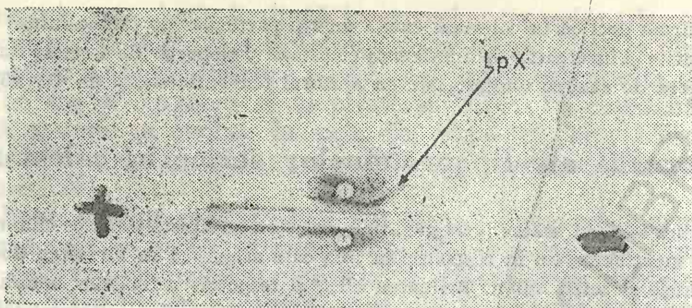


Fig. 10—11. Separare electroforetică în gel de agaroză a lipoproteinelor serice la bolnavi cu colestază.

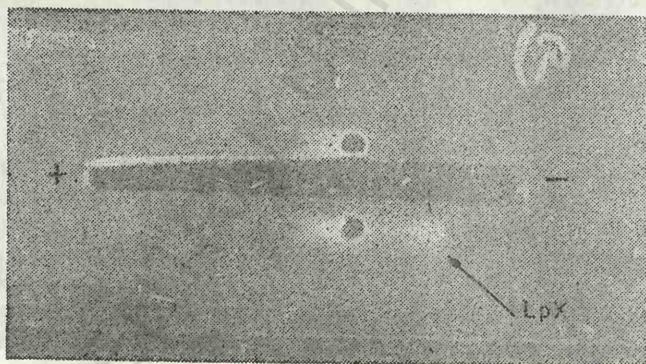
a) Bolnavul I.C. prezentînd o colestază extrahepatică cauzată de obstrucţia coledocului în urma unui carcinom pancreatic. Se poate observa o scădere relativă a fracţiunilor α şi pre β şi o lărgire considerabilă a fracţiunii β, cauzată de o lipoproteină care migrează în spatele β-lipoproteinelor normale, fiind greu de separat de acestea. Această lipoproteină cu migrare post-β în gelul de agaroză este lipoproteina X. (Lp X)
b) Acelaşi bolnav după intervenţia chirurgicală, care restabileşte tranzitul bilei în intestin. Se observă normalizarea lipidogramei.
c) Bolnava N.E., cu fenomene de colestază intrahepatică. Se observă o creştere a unor alfa lipoproteine cu migrare întîrziată.



a

Fig. 10—12. Evidenţierea lipoproteinei X (Lp X) prin electroforeză în gel de agar.

a) Imunelectroforeză. În rezervorul de sus: serul unui bolnav cu icter mecanic; în rezervorul de jos: ser normal; în şanţul din mijloc ser imun anti-Lp X. Lp X se evidenţiază ca o linie de precipitare aflată spre polul negativ. Linia de precipitare dată de serul normal (rezervorul de jos) şi aflată doar spre polul pozitiv se datoreşte lipoproteinelor normale, care conţin unii antigeni comuni cu Lp X.



b

b) Evidenţierea Lp X se poate face şi prin precipitare cu polianioni. În rezervorul de sus, serul normal; în rezervorul de jos, serul unui bolnav cu icter mecanic; în şanţul din mijloc, soluţie de polianioni (sodiu dextran sulfat 0,6%, $CaCl_2$ 0,2 mol). Lipoproteina X apare ca un precipitat alb situat spre polul negativ; fotografierea s-a făcut pe fond întunecat. De remarcat că în timp ce în gelul de agaroză Lp X migrează spre polul pozitiv, situîndu-se imediat în spatele β-lipoproteinelor (vezi fig. 10—11), în gelul de agar Lp X migrează spre polul negativ, fiind dealtfel singura lipoproteină cu o astfel de migrare.

ne. La electroforeza în gel de agaroză Lp X migrează înapoia β lipoproteinelor de care se diferenţiază însă cu greu. În schimb, la electroforeză în gel de agar, Lp X se diferenţiază cu uşurinţă fiind singura lipoproteină care migrează spre polul negativ şi poate fi evidenţiată prin precipitare în gel sub acţiunea unor polianiòni şi a unor cationi bivalenţi (De exemplu dextransulfat şi $CaCl_2$). Marcarea *in vitro* a lipoproteinelor serice cu ^{14}C colesterol permite şi o dozare cantitativă a Lp X, constatîndu-se astfel că în colestaza extrahepatică creşterile de Lp X sînt mai importante decît în colestaza intrahepatică (35 b). De notat că apariţia Lp X survine doar în sindroamele colestatice şi într-o afecţiune rară cu caracter familial şi anume în deficitul de lecitin: colesterol aciltransferază (LCAT), o enzimă care asigură esterificarea colesterolului din plasmă (vezi pag. 229 vol. I).

Apariţia Lp X nu constituie singura anomalie care afectează lipoproteinele serice în cursul colestazei. Aşa, de exemplu, în icterele mecanice prelungite, în care s-a ajuns la o alterare a proteosintezei hepatice, se constată o scădere procentuală a α_1 şi pre β lipoproteinelor, iar fracţiunea β are un conţinut mai crescut de trigliceride decît β lipoproteinele subiecţilor normali. Pe de altă parte, în numeroase cazuri de colestază intrahepatică se poate decela o creştere a α_1 lipoproteinelor, care prezintă totodată o migrare mai încetinită în gelul de agaroză.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. ACCATINO, L., SIMON, F. R., *Identification and characterization of a bile acid receptor in the isolated liver surface membranes*, J. Clin. Invest., 1976, 57, 496.
2. ADMIRAND, W. H., SMALL, D. M., *The physicochemical basis of cholesterol gallstone formation in man.*, J. Clin. Invest., 1968, 47, 1043.
3. ARIAS, I. M., *Chronic unconjugated hyperbilirubinemia without overt signs of hemolysis, in adolescents and adults*, J. Clin. Invest., 1962, 41. 2233.
4. ARIAS, I. M., GARTNER, I. M., SEIFTER, S., FURMAN, M., *Prolonged neonatal-unconjugated hyperbilirubinemia asosciated with breast feeding and a steroid, pregnane 3(α), 20(β)-diol in maternal milk that inhibits glucuronide formation in vitro*, J. Clin. Invest., 1964, 43, 2037.
5. ARIAS, I. M., *The excretion of conjugated bilirubin by the liver cell*, Medicine, 1966, 45, 513.
6. BALASUBRAMANIAM, S., MITROPOULOS, K. A., MYANT, N. B., *Hormonal control of the activities of cholesterol-7α-hydroxylase and hydroxymethylglutaryl-CoA reductase in rats*, in MATTERN, S., HACKENSCHMIDT, J., BACK, P., and GEROK, W., *Advances in bile acid Research, III Bile Acid Meeting, Freiburg*, June 13–15, 1974, Ed. F. K. Schattauer, Stuttgart-New York, 1975.
7. BELL, G. D., WHITNEY, B., DOWLING, R. H., *Gallstone dissolution in man using chenodeoxycholic acid*, Lancet, 1972, 2, 1213.
8. BOYD, G. S., BROWN, M. J. G., HATTERSLEY, N. G., LAWSON, M. E., SUCKLING, K.E., *Rat liver cholesterol-7α-hydroxylase*, in MATTERN, S., HACKENSCHMIDT, J., BACK, P., and GEROK, W., *Advances in bile acid research, III Bile Acid Meeting, Freiburg*, June 13–15 1974, Ed. F. K. Schattauer, Stuttgart-New York, 1975, p. 45.
9. BRAUN, W., WÖCKEL, W., GIERTLER, U. and VOLLMAR, F., *Phenobarbitalbehandlung der benignen rezidivierenden intrahepatischen Cholestase*, Schweiz. med. Wschr., 1972, 102, 1769.
10. CEDERBLAD, C., KORSAN-BENGTSEN, K., OLSSON, R., *Observations of increased levels of blood coagulation factors and other plasma proteins in cholestatic liver disease.*, Scand. J. Gastroenterol, 1976, 11, 391.
11. CREMER, R. J., PERRYMAN, P. W., RICHARDS, D. H., *Influence of light on hyperbilirubinemia of infants*, Lancet, 1958, 1, 1094.

12. CRIGLER, J. F. and NAJJAR, V. A., *Congenital familial non-hemolytic jaundice with Kernicterus*, Pediatrics, 1952, 10, 169, citat de Schmid (40).
13. DUBIN, I. N. and JOHNSON, F. B., *Chronic idiopathic jaundice with unidentified pigment in the liver cells: a new clinicopathological entity with a report of twelve cases*, Medicine (Baltimore), 1954, 33, 155, citat de Schmid (40).
14. DOWLING, R. H., *The enterohepatic circulation of bile acids, as they relate to lipid disorders*, J. Clin. Path., 1974, 26, suppl. 5, 59.
15. EINARSSON, K., HELLSTRÖM, K. and KALLNER, M., *The effect of Clofibrate on the elimination of cholesterol as bile acids in patients with hyperlipoproteinemia type II and IV*, Europ. J. Clin. Invest., 1973, 3, 345.
16. EINARSSON, K., HELLSTRÖM, K., KALLNER, M., *Bile acid kinetics in relation to sex, serum lipids, body weights and gallbladder disease in patients with various types of hyperlipoproteinemia*, J. Clin. Invest., 1974, 54, 1301.
17. EINARSSON, K., HELLSTRÖM, K. and KALLNER, M., *The effect of cholestyramine on the elimination of cholesterol as bile acids in patients with hyperlipoproteinemia type II and IV*, Europ. J. Clin. Invest., 1974, 4, 405.
18. FORKER, E. L., *The effect of estrogen on bile formation in the rat*, J. Clin. Invest., 1969, 48, 654.
19. GELEHRTER, T. D., *Enzyme induction and Drug Metabolism.*, New. Engl. J. Med., 1976, 294, 589.
20. GILBERT, A., LEREBOULLET, P., HERSCHER, M., *Les trois cholémies congénitales*, Bull. et Mém. Soc. Med. Hôp. Paris, 1907, 24, 1203, citat de Schmid (40).
21. GORESKY, C. A., *The hepatic uptake and excretion of sulfobromophtalein and bilirubin*, Canad. Med. Ass. J., 1965, 92, 851.
22. GRAY, C.H., *Bile Pigments in Health and Disease*, Ed. C. C. Thomas, Springfield I11, 1961.
23. HARPER, H. A., *Review of Physiological Chemistry*, 14th edition, Lange Medical publications, Los Altos, California, 1973.
24. JAVITT, N. B., *Hepatic bile formation*, New Engl. J. Med., 1976, 295, 1464–1469 şi 1511–1516.
25. JAVITT, N. B., EMERMAN, S., *Effect of sodium taurolitocholate on bile flow and bile acid excretion*, J. Clin. Invest., 1968, 47, 1002.
26. LESTER, R., *The intestinal phase of bile pigment excretion*, Gastroenterology, 1964, 47, 424.
27. LEVI, A. J., GATMAITAN, Z., ARIAS, I. M., *Two hepatic cytoplasmic protein fractions Y and Z, and their possible role in hepatic uptake of bilirubin, sulfobromophtalein and other anions*, J. Clin. Invest., 1969, 48, 2156.
28. LINARELLI, L.G., WILLIAMS, C. N., PHILLIPS, M. I., *Byler's disease: letal intrahepatic cholestasis*, J. Pediatr., 1972, 81, 484.
29. LOW-BEER, T. S., *Influences on the regulation of bile salt synthesis*, in MATTERN, S., HACKENSCHMIDT, J., BACK, P., and GEROK, W., *Advances in bile acid research III. Bile Acid Meeting Freiburg*, June 13–15, 1974, Ed. F. K. Schattauer, Stuttgart-New York, 1975, 201.

30. LYNCH, M. J., RAPHAEL, S. S., MELLOR, L. M., *Medical Laboratory Technology and Clinical Pathology*, Ed. W. B. Saunders, Philadelphia, London, Toronto, 1969.
31. NAMIHISA, T., YAMAGUCHI, K., NAMBU, M., *The Constitutional conjugated hyperbilirubinemia*, Gastroenterologia Japonica, 1973, 8, 217.
32. OSTROW, J. D., *Mechanism of the phototherapy of jaundice*, Gastroenterology, 1969, 56, 400.
33. OSTROW, J. D. and SCHMID, R., *The protein binding of ^{14}C-bilirubin in human and murine Serum*, J. Clin. Invest., 1963, 42, 1286.
34. RAMBOER, C., THOMPSON, R. P. H. and WILLIAMS, R., *Controlled trials of phenobarbitone therapy in neonatal joundice*, Lancet, 1969, 1, 966.
35. REDEKER, A. G., RICKARD, D. and FELSHER, B. F., *The reciprocal relationship between caloric intake and degree of hyperbilirubinemia in Gilbert's syndrome*, Gastroenterology, 1970, 58, 303.
36. ROBINSON, S. H., *The origins of bilirubin*, New Engl. J. Med., 1968, 279, 143.
37. SCHAFFNER, F., *Some observations concerning the molecular biology of cholestasis*, Helv. med. Acta, 1974, 37, 183
38. SCHENKER, S., DAWBER, N. H., SCHMID, R., *Bilirubin metabolism in the fetus*, J. Clin. Invest., 1964, 43, 32.
39. SCHMID, R., *Direct-reacting bilirubin, bilirubin glucuoronide in serum, bile and urine*, Science, 1956, 124, 76.
40. SCHMID, R., *Hyperbilirubinemia*, in STANBURY, I. B., WYNGAARDEN, J. B., FREDRICKSON, D. S., *The Metabolic basis of inherited disease*, Third Edition, Ed. Mc Graw Hill, New York, 1972, 1141.
41. SCHMID, R., AXELROD, I., HAMMAKER, L., SWARM, R.L., *Congenital jaundice in rats, due to a defect in glucuronide formation*, J. Clin. Invest., 1958, 37, 1123.
42. SHERLOCK, SHEILA, *Diseases of the Liver and Biliary system*, Fifth Edition, Ed. Blackwell, London, 1975.
43. SKREDE, S., BLOMHOFF, J. P., GJONE, E., *Biochemical features of acute and chronic hepatitis*, Annals of Chemical Research, 1976, 8, 182.
44. SPRINZ, H. and NELSON, *Persistent nonhemolytic hyperbilirubinemia associated with lipochrome-like pigment in liver cells*. Ann. Intern. Med., 1954, 14, 952.
45. STARINSKY, R. and SHAFRIR, E., *Displacement of albumin-bound bilirubin by free fatty acids. Implications for neonatal hyperbilirubinemia*, Clin. Chim. Acta. 1970, 29, 311.
46. TAPĂLAGĂ, DANIELA, *Phenobarbitone in the treatment of cholestatic hepatopathies, X^th^ International Congress on Gastroenterology*, Budapest, 22–29 June, 1976.
47. THAYSEN, E. H., PEDERSEN, L., *On the possibility of a selective deficiency in active bile acid absorbition*, in MATTERN, S. HACKENSCHMIDT, J. BACK, P. and GEROK, W., *Advances in bile acid research III. Bile Acid Meeting Freiburg, June 13–15, 1974*. Ed. F.K. Schattauer, Stuttgart-New York, 1975, 407.

48. THOMPSON, R.P.H., STATHERS, G. M., PILCHER, C. W. T., McLEAN, A.E.M., ROBINSON, J., WILLIAMS, R., *Treatment of unconjugated jaundice with dicophane*, Lancet, 1969, 1, 4.
49. Van den BERGH, A., HIJMANS, A, MULLER, P., *Über eine direkte und indirekte Diazoreaktion auf Bilirubin*, Biochem. Ztschr., 1916, 77, 90, citat de Lynch și colab. (30).
50. VLAHCEVIC, Z. R., BELL, C. C. jr., BUHAC, I., FARRAR, J. T. and SWELL, L., *Diminished bile acid pool in patients with gallstones*, Gastroenterology, 1970, 59, 165.
51. VLAHCEVIC, Z. R., GREGORY, D. H. and SWELL, L., *Phenobarbital and cholesterol gallstone dissolution*, Amer. J. Digestive Diseases, 1976, 21, 429.
52. WHEELER, H. O., *Secretion of bile acids by the liver and their role in the formation of hepatic bile*, Arch. Intern. Med., 1972, 130, 533.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Stabiliţi corespondenţa între enzimele de mai jos şi procesele pe care le catalizează:

A. Hemoxigenaza microzomială	I. Descompunerea hemului în biliverdină, Fe şi CO
B. Biliverdinreductază	II. Transformarea biliverdinei în bilirubină
C. β-hidroxi-β metil, glutaril coenzima A reductază (HMG-CoA reductază)	III. Iniţierea transformării colesterolului în acizi biliari.
D. Colesterol-7α-hidroxilază	IV. Sinteza de colesterol

2. Sursele de bilirubină pot fi reprezentate de:
   A. Hemoglobina hematiilor îmbătrînite
   B. Unele hemoproteine hepatice (citocromi, oxidaze etc.)
   C. Hemul rezultat din hemoliza intramedulară a unor elemente tinere din seria roşie
   D. Toţi aceşti compuşi pot fi surse de bilirubină

3. În care din stările patologice de mai jos *nu* se poate decela urobilinogen în urina emisă între orele 14–16:
   A. Icter hemolitic
   B. Hepatită cronică evoluînd cu sindrom icteric
   C. Încetinirea exprimată a tranzitului intestinal
   D. Proliferarea microbiană în intestinul subţire
   E. Icter colestatic cauzat de un calcul biliar care produce o obstrucţie incompletă a coledocului.
   F. Neoplasm de cap de pancreas evoluînd cu obstrucţie totală a căilor biliare.

4. Stabiliţi corespondenţa între cele două forme ale bilirubinei plasmatice şi proprietăţile lor:

A. Bilirubină indirectă	I. Neconjugată, insolubilă în apă, fixată pe albumina serică; nu trece în urină. În caz de concentraţii excesive (> 20 mg/100 ml) sau în defect de fixare pe albumină pătrunde prin bariera hematoencefalică şi prin membranele celulelor nervoase producînd icter nuclear

B. Bilirubină directă — II. Glicuronoconjugată, solubilă în apă, fixată labil pe albumină difuzează în lichidul interstițial putîndu-se oxida spre biliverdină. Nu trece prin bariera hematoencefalică. Trece în urină.

5. Hiperbilirubinemia nou-născuților poate fi cauzată de:

A. Un proces de hemoliză
B. Un defect de captare a bilirubinei de către hepatocite
C. Un deficit în procesul de formare al uridindifosfat acidului glicuronic (UDPGA).
D. Un deficit de glicuroniltransferază
E. O viteză redusă de excreție în bilă a bilirubinei conjugate
F. Toate aceste procese contribuie
G. Nici unul nu poate explica hiperbilirubinemia indirectă a nou-născutului.

6. Care din măsurile terapeutice de mai jos este contraindicată la noul născut cu hiperbilirubinemia indirectă exprimată, amenințat de apariția icterului nuclear:

A. Exsanguinotransfuzia
B. Administrarea de albumină umană
C. Administrarea de salicilați.

7. Stabiliți corespondența între datele de laborator de mai jos întîlnite la un adult și diagnosticul cu care cadrează:

A. Bilirubină directă 16 mg/100 ml. Bilirubină indirectă 0,8 mg/100 ml; În urină pigmenții biliari (bilirubină) pozitivi; urobilinogen negativ la repetate examinări.
Alaninaminotransferaza (GPT) = = 40 mU/ml
Aspartataminotransferaza (GOT) = 50 mU/ml
Fosfataza alcalină = 70 u King-Armstrong (280 mU/ml)
Gamaglutamiltransferaza (γGT) = 760 mU/ml
Colesterol seric 580 mg/100 ml; prezența lipoproteinei X

I. Icter colestatic (mai probabil obstrucție totală cu caracter malign a căilor biliare)

B. Bilirubină directă 0,2 mg/100 ml. Bilirubină indirectă 2,8 mg/100 ml. În urină pigmenţi negativ, urobilinogen intens pozitiv. GPT = 10 mU/ml; GOT = 14 mU/ml
Fosfataza alcalină 7 U KA (28 mU/ml)
γGT = 16 mU/ml; Hemoglobină = 10 g/100 ml
Fier seric = 200 μg/100 ml; Reticulocite = 30‰.

II. Icter hemolitic

C. Bilirubină directă 4 mg/100 ml. Bilirubină indirectă 3 mg/100 ml. În urină pigmenţi pozitiv, urobilinogen pozitiv (la internare); GPT = 800 mU/ml; GOT = 500 mU/ml. Fosfataza alcalină 25 U KA (100 mU/ml), γGT = 70 mU/ml.

III. Icter hepatocelular (mai probabil hepatită acută virală)

8. Reapariţia în urină a urobilinogenului la un bolnav cu hepatită acută virală, care în cursul internării a prezentat o dispariţie a acestuia din urină (paralel cu decolorarea fecalelor) indică:

A. Agravarea hepatitei
B. O ameliorare a sindromului colestatic
C. Nu se pot face consideraţii prognostice

9. Stabiliţi corespondenţa între afecţiunile cu caracter genetic de mai jos şi mecanismul patogenetic incriminat în producerea lor:

A. Boala lui Gilbert	I. Deficit sever al procesului de glicuronoconjugare
B. Sindromul Crigler-Najjar	II. Defect de captare a bilirubinei libere de către hepatocite
C. Sindromul Dubin-Johnson	III. Defect de excreţie a bilirubinei conjugate
D. Boala lui Byler	IV. Defect în procesul de secreţie a acizilor biliari.

10. În care din cazurile de mai jos, administrarea de fenobarbital nu este în măsură să inducă glicuroniltransferaza şi deci nu are efect asupra nivelului plasmatic al bilirubinei indirecte:

A. Subiecţi cu boala lui Gilbert

B. Cazuri de sindrom Crigler-Najjar (homozigoţi)
C. Hiperbilirubinemia prin defect parţial de glicuronoconjugare
D. Rude de gradul I ale bolnavilor cu sindrom Crigler-Najjar (heterozigoţi)

11. Stabiliţi corespondenţa între afecţiunile cu caracter genetic amintite mai jos şi cîteva particularităţi clinice şi de laborator caracteristice lor:

A. Boala lui Gilbert	I. Hiperbilirubinemie indirectă moderată care se accentuează mult după un post de 48 ore.
B. Sindrom Crigler-Najjar	II. Evoluează cu valori excesiv de mari ale bilirubinei indirecte care pot cauza leziuni nervoase.
C. Sindrom Dubin-Johnson	III. Hiperbilirubinemia conjugată se însoţeşte de o uşoară retenţie de BSP (de ex. 7% după 45 min). La 120 min, concentraţia plasmatică de BSP e însă mai mare decît la 45 min (reîntoarcere în plasmă de BSP glicuronoconjugat).
D. Boala Byler	IV. Creşterea acizilor biliari în ser; prurit intens, steatoree, hepatomegalie, hipotrofie staturală, rahitism. Pe parcursul bolii apare creşterea bilirubinei conjugate.

12. Stabiliţi corespondenţa între condiţiile experimentale de mai jos şi efectul lor asupra activităţii β hidroxi-β metil, glutaril-coenzima C-reductazei (HMG-CoA reductazei) şi colesterol-7α-hidroxilazei din ficat:

A. Drenajul biliar sau administrarea de colestiramină	I. HMG-CoA reductaza creşte; colesterol-7α-hidroxilaza nemodificată
B. Inaniţie	II. Activitatea ambelor enzime creşte
C. Administrarea de colesterol	III. HMG-CoA reductaza scade; colesterol-7α hidroxilaza creşte
D. Administrarea de tomatină	IV. Activitatea ambelor enzime scade

13. Apariţia unui sindrom icteric în cursul evoluţiei bolii lui Byler se datoreşte:

A. Faptului că atît bilirubina conjugată cît şi acizii biliari se elimină în bilă prin intermediul aceluiaşi mecanism de transport activ (proteină transportoare comună)
B. În această afecţiune există un deficit de glicuronoconjugare

C. Defectul primar în procesul de secreţie a acizilor biliari duce la diminuarea fluxului apos biliar care se repercută în mod secundar asupra drenării şi „spălării" bilirubinei conjugate din canaliculele biliare
D. Toate aceste mecanisme contribuie
E. Nu există o explicaţie plauzibilă

14. Bolnavii cu litiază se caracterizează prin:
A. Un rezervor (capital) de acizi biliari diminuat
B. O creştere a raportului între colesterol şi acizii biliari din bilă
C. Ambele particularităţi se întîlnesc frecvent la bolnavii cu litiază biliară
D. Modificările amintite nu sînt caracteristice.

15. Întreruperea circuitului enterohepatic al acizilor biliari (de exemplu după rezecţia de ileon) poate avea ca urmare:
A. O absorbţie anormal crescută de acid oxalic cu hiperoxalurie şi apariţia eventuală de calculi urinari
B. Perturbarea absorbţiei grăsimilor şi steatoree
C. Diarei apoase, datorită acţiunii stimulante asupra peristaltismului exercitată de acizii biliari neabsorbiţi în ileon şi ajunşi în colon.
D. Toate aceste manifestări patologice pot apare drept consecinţă a întreruperii circuitului enterohepatic al acizilor biliari.
E. Apariţia acestor fenomene la un bolnav cu rezecţie de ileon este întîmplătoare şi fără legătură cu întreruperea circuitului enterohepatic al acizilor biliari.

16. Care din grăsimile de mai jos produce o creştere mai exprimată a fluxului biliar şi a numărului de circuite enterohepatice a acizilor biliari, avînd drept consecinţă o eliminare crescută a colesterolului sub formă de acizi biliari:
A. Untul
B. Margarina
C. Oleul de măsline
D. Oleul de porumb

17. Care din compuşii înşiraţi mai jos poate cauza o reducere a fluxului biliar avînd drept consecinţă apariţia fenomenelor de colestază:
A. Etinilestradiol
B. 17α-metiltestosteron
C. α-naftilisotiocianat (ANIT)
D. Acidul litocolic
E. Toţi aceşti compuşi
F. Nici unul

XI METABOLISMUL PORFIRINELOR

Porfirinele constituie o familie largă de pigmenţi cu structură tetrapirolică inelară, care au proprietatea comună de a prezenta fluorescenţă roşie în lumina ultravioletă. Combinate cu diferite metale şi adiţionate la o proteină ele îndeplinesc funcţii biologice extrem de importante (13, 17, 35). Aşa, de exemplu, clorofila, conţinînd magneziu, intervine în fotosinteză, în regnul vegetal, iar hemoglobina şi mioglobina, conţinînd fier, intervin în transportul şi stocarea oxigenului la vertebrate. O serie de factori care intervin în procesul de oxidoreducere celulară (citocromi — citocromoxidaze) sînt tot hemoproteine şi includ în structura lor porfirinele. Anomaliile metabolismului porfirinelor realizează porfiriile. Deşi relativ rare, aceste afecţiuni prezintă un deosebit interes pentru biochimia clinică din următoarele motive:

În primul rînd, ele reprezintă un exemplu foarte demonstrativ, al producerii unor manifestări clinice deosebit de complexe consecutive unei anomalii metabolice (2).

În al doilea rînd, ele constituie exemple tipice de agravare a tulburărilor metabolice şi de precipitare a unor fenomene clinice severe ca urmare a administrării unor medicamente care interferează cu activitatea unor enzime implicate în metabolismul lor (9, 15).

În al treilea rînd, porfirinele reprezintă modele extrem de sugestive pentru existenţa defectelor în procesul de reglare genetică a producerii de enzime (17, 35).

Majoritatea porfirinelor cunoscute apar ca o consecinţă a oxidării unor cromogeni, care sînt substanţele real implicate în sinteza grupării prostetice a hemoglobinei şi fermenţilor respiratori (13, 17). Singura porfirină utilizată în sinteza hemului este protoporfirina.

DATE GENERALE PRIVIND STRUCTURA ŞI METABOLISMUL PORFIRINELOR

La baza structurii porfirinelor stă porfina, alcătuind un schelet tetrapirolic la care se ataşează diverşi radicali (Fig. 11—1).

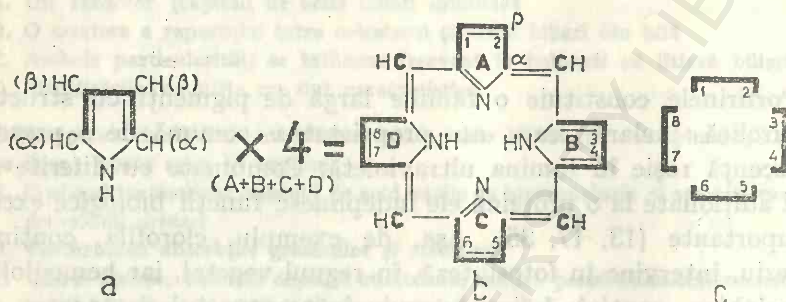


Fig. 11—1. Teoretic, porfirinele au la bază o structură simplificată. Porfina (b), formată din ciclizarea a patru nuclei pirolici (A, B, C, D) uniţi între ei prin grupe metenil fixate pe carbonii α. Carbonii periferici, aşa-numiţi carboni β, se numerotează convenţional, în sensul acelor de ceasornic, de la 1 la 8.
Prin ataşarea anumitor radicali pe carbonii β rezultă diferitele porfirine cunoscute.
Structura fixă a porfinei permite reprezentarea sa simplificată unde se notează numai carbonii β la care se pot ataşa diverşi radicali. (c)

Aşa cum rezultă din figura 11—4, prin ataşarea anumitor radicali (acetici, propanoici, metilici sau vinilici) la nivelul carbonilor periferici ai pirolilor (aşa-numiţii carboni β) se obţin diferitele porfirine cunoscute în natură. Avînd în vedere structura fixă a porfinei, se obişnuieşte utilizarea unei scheme simplificate unde nu figurează decît grupele substituibile, corespunzînd carbonilor β, numerotaţi convenţional de la 1 la 8 (fig. 11—1).

În cazul unei porfirine, care prezintă, în proporţii egale, două tipuri de radicali, aranjamentul acestor radicali face posiblă existenţa teoretică a patru izomeri (1, 13, 35). (Vezi fig. 11—2). Precizăm că în natură se întîlnesc numai izomerii I şi III, în timp ce izomerii II şi IV există doar ca produşi artificiali. Importanţa identificării celor doi izomeri (I şi III) ai porfirinelor naturale rezultă din imposibilitatea transformării lor mutuale, reciproce, ceea ce implică existenţa unor căi metabolice proprii fiecărui tip (13) şi, aşa cum se

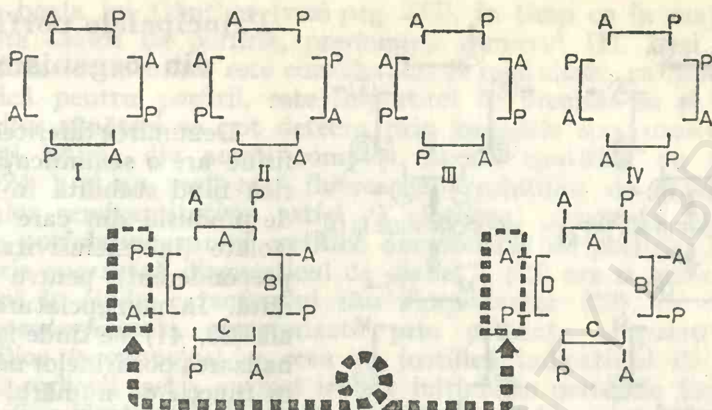


Fig. 11–2. Uroporfirina se caracterizează prin faptul că în molecula sa carbonii β sînt substituiţi prin două tipuri de radicali: acetic (A) şi propionic (P).
Această situaţie face posibilă existenţa teoretică a 4 izomeri (care au şi fost sintetizaţi de Hans Fischer). Numai izomerii I şi III sînt naturali. Izomerii II şi IV sînt produşi de sinteză. Deosebirea dintre cei doi izomeri naturali I şi III constă în aceea că dispoziţia radicalilor fixaţi pe carbonii β ai pirolului D este inversată.

va vedea, şi o serie de tulburări cu caracter patologic diferit. Problema izomeriei porfirinelor, în aparenţă complicată, se reduce practic la noţiunea clară, că toate porfirinele naturale sau obţinute din produsele biologice aparţin fie izomerului I, fie izomerului III. (35).

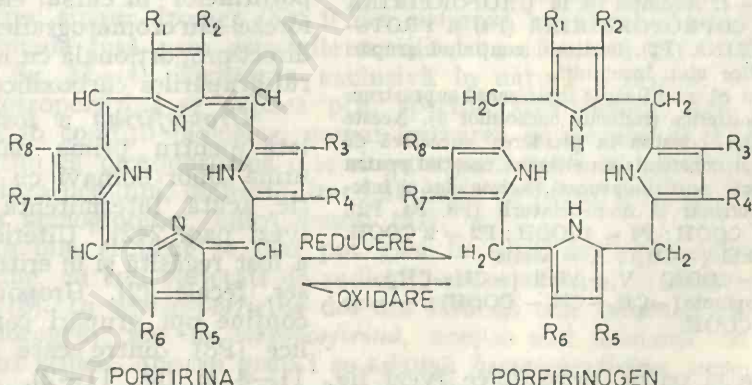


Fig. 11–3. Formula structurală a nucleului porfirinic şi a porfirinogenului corespunzător.
Porfirina rezultă din oxidarea porfirinogenului. Fenomenul poate fi reversibil.

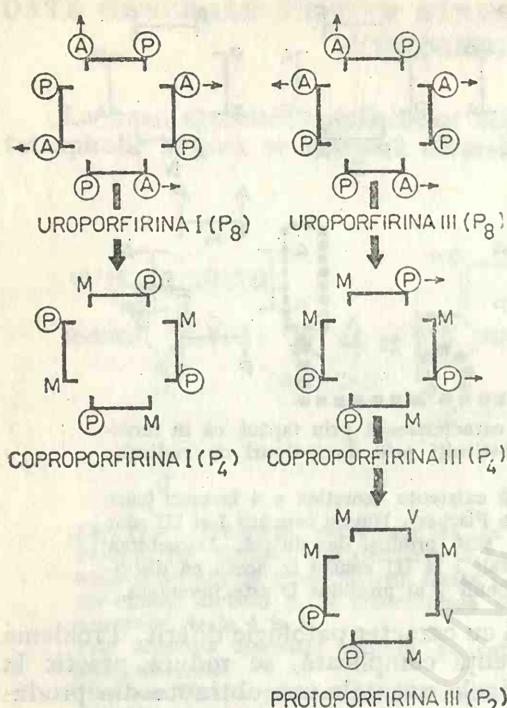


Fig. 11–4. Evoluția de la UROPORFIRINA (P8) la COPROPORFIRINA (P4) și PROTOPORFIRINA (P2). Radicalii conținînd grupări carboxilice sînt încercuiți.
De notat că modificările interesează suprastructurile periferice (radicalii carbonilor β). Aceste modificări constau în pierderea succesivă de COOH și constituie un element esențial pentru înțelegerea porfirinogenezei. Reiese clar și înțelesul doctrinar al nomenclaturii (P8, P4, P2). P8 = 8 COOH; P4 = 4COOH; P2 = 2 COOH.
M = Metil ($-CH_3$); A = acetic ($-CH_2-COOH$); V = Vinil ($-CH{=}CH_2$).
P = Propionic ($-CH_2-CH_2-COOH$); → = se pierde COOH.

Principalele porfirine din organism

Denumirea diferitelor porfirine are o semnificație istorică fiind stabilită în funcție de produsul din care au fost izolate (în exclusivitate sau preponderent) pentru prima dată. În nomenclatura actuală (23, 41) se tinde la nominalizarea porfirinelor naturale, în funcție de numărul grupelor carboxilice: 8 la uroporfirină (P8), 4 la coproporfirine (P4) și 2 la protoporfirine (P2) (Vezi fig. 11–4). Această identificare aparent simplistă are o mare semnificație atît teoretică cît și practică, deoarece a permis, pe de o parte, elucidarea mecanismului porfirinogenezei, iar, pe de altă parte, viteza de migrare a porfirinelor în cursul electroforezei sau cromatografiei este direct proporțională cu numărul grupărilor carboxilice (7).

Uroporfirina a fost izolată pentru prima dată în urina unor bolnavi cu porfirie acută intermitentă (17) (vezi pag. 242). Ulterior ea a fost regăsită și în eritrocite, ser, fecale (2). Uroporfirina conține opt grupări carboxilice (P8) dintre care patru acetice și patru propanoice (vezi fig. 11–4 și fig. 11–2).

Tendința marcată a uroporfirinelor de a face complexe cu calciul (în oase), cu zincul (în urină), sau cu cuprul (în diferite viscere) a îngreunat mult timp izolarea lor. La om, uroporfirina I apare în cantități crescute doar în unele forme de porfirie congenitală și mai

ales în boala lui Günther (vezi pag. 235), în timp ce în majoritatea celorlalte cazuri de porfirie, predomină izomerul III. Deşi apariţia uroporfirinelor în urină este considerată, în mod clasic, ca fiind patognomonică pentru porfirii, este important de precizat că şi în urina subiecţilor sănătoşi se pot detecta prin metodele spectrometrice (40) cantităţi infime din aceşti compuşi. Aceste cantităţi nu depăşesc 30 μg/24 h şi nu realizează fluorescenţa soluţiilor de separare ale metodelor semicantitative, astfel că aforismul „prezenţa uroporfirinei sau porfobilinogenului certifică diagnosticul de porfirie, aşa cum glicozuria sugerează diagnosticul de diabet", (13) are o mare valoare didactică în ciuda caracterului său simplificator (23).

Coproporfirinele, caracterizate prin prezenţa a patru grupări carboxilice (propanoice) — ceea ce justifică indicativul de P4 — şi a patru radicali metil, au fost izolate iniţial din materiile fecale, dar ele pot fi evidenţiate şi în urină, bilă, ficat, măduva osoasă şi creier. Eliminările urinare de coproporfirine sînt de aproximativ 166 $\pm$ $\pm$ 40 μg/24 h, la bărbaţi, şi de 134 $\pm$ 40 μg/24 h, la femei (35). Aproximativ 30% din coproporfirinele urinare sînt reprezentate de izomerul III, dar această proporţie este variabilă.

Protoporfirina se caracterizează prin prezenţa a două grupări carboxilice (P2). Izolată la om şi alte mamifere din conţinutul intestinal, eritrocite, măduva osoasă, ficat şi splină, nu se elimină niciodată prin urină. Combinată cu fierul bivalent constituie gruparea prostetică a hemoglobinei (vezi pag. 119). Protoporfirina prezintă trei varietăţi de lanţuri laterale (metil, vinil, propil), ceea ce sugerează existenţa teoretică a 15 izomeri. „Natura a venit în ajutorul biochimiştilor prezentînd un singur izomer (Nr. 9 din sistemul lui Hans Fischer), care corespunde însă prin grupările metilice cu izomerul III" (13, 17). (Vezi fig. 11—4). Existenţa exclusivă în natură a acestei varietăţi de protroporfirină se explică prin specificitatea enzimei care catalizează, în condiţii biologice, numai formarea izomerului 9 (III) (13). Amintim că protoporfirina este singura porfirină care participă activ la sinteza hemului, realizînd, în combinaţie cu fierul, gruparea prostetică a hemoglobinei, adică hemul (37).

În bilă şi ficat se mai pot găsi în cantităţi infime alte două porfirine, cu trei varietăţi de radicali: mezoporfirina şi deuteroporfirina (18). În *deuteroporfirină* doi din radicali sînt înlocuiţi cu atomi de hidrogen, iar în *mezoporfirină*, aceştia sînt înlocuiţi cu două grupări etilice. Acestui grup i se adaugă *hematoporfirina*, care diferă structural de mezoporfirină prin hidroxilarea celor doi radicali etilici. Hematoporfirina se obţine prin tratarea hemoglobinei cu un acid concentrat, fiind deci un produs artificial care nu ia naştere niciodată spontan din procesele metabolice.

Eliminările fiziologice de porfirine şi precursori prin urin[ă]

	Urină (mg/24 h)	Fecale (mg/24 h)
Acid delta aminolevulinic (ALA)	cel mult 2000 μg	—
Porfobilinogen (PBG)	cel mult 1500 μg	—
Uroporfirină	cel mult 30 μg	urme
Coproporfirină	100–250 μg	300–1100 μg (în medie 422μg
Protoporfirină	0	pînă la 2000 μg (în medie 955 μg)

Aşa cum reiese din figura 11–4, principalele porfirine naturale diferă în funcţie de numărul grupărilor carboxilice ceea ce permite separarea lor electroforetică. Evidenţierea calitativă a porfirinelor poate fi efectuată rapid prin extracţia lor din urină sau fecale în solvenţi organici sau în acizi minerali şi producerea unei fluorescenţe roşii în aceste extracte prin expunere la lumină ultravioletă (lampa Wood). Aşa, de exemplu, coproporfirinele sînt solubile în amestecul de acid acetic glacial-eter etilic, din care pot fi apoi trecute în soluţii de acid clorhidric. Uroporfirinele sînt insolubile în amestecul de acid acetic – eter etilic, dar sînt parţial solvite în acetat de etil de unde pot fi apoi extrase în acid clorhidric. Fluorescenţa roşie se obţine în aceste soluţii de acid clorhidric. Cea mai simplă probă de orientare constă însă în tratarea a 10 ml urină cu 2 ml dintr-un amestec în părţi egale de acid acetic glacial, eter etilic şi alcool amilic. Prezenţa unei fuorescenţe roşii a stratului superior în lumina ultravioletă indică prezenţa porfirinelor (uro- sau copro).

Evidenţierea rapidă a precursorilor porfirinici respectiv a porfobilinogenului se poate efectua prin tratarea a 3 ml urină cu un volum egal din reactivul Ehrlich. Apariţia unei coloraţii roşii, care rămîne în faza apoasă după extracţie cu 3 ml butanol, indică prezenţa porfobilinogenului. Evidenţierea altui precursor important ,acidul δ-aminolevulinic, implică o prealabilă condensare a precursorului cu acetilacetonă, iar pirolul format dă un complex colorat în roşu în prezenţa reactivului Ehrlich. Această metodă nu poate diferenţia acidul δ-aminolevulinic de porfobilinogen. Ea este utilă însă în cazurile de intoxicaţie cu plumb, cînd eliminările de porfobilinogen sînt reduse, iar cele de acid δ-aminolevulinic (ALA) sînt mult crescute. La normali, eliminările urinare de porfobilinogen şi ALA nu depăşesc 2 mg/24 ore. Este important de precizat că porfirinele sînt doar deşeurile de oxidare ale cromogenilor.

Tabelul 11–1 redă în mod sinoptic eliminările normale de porfirine şi precursori în urină, fecale, precum şi concentraţiile lor în eritrocite.

Tabelul 11—1

şi fecale şi concentraţia lor în eritrocitele normale

După Marver şi Schmid (35) modificat

Eritrocit (mg/100 ml eritrocite)	Observaţii
—	ALA poate proveni şi din alte căi metabolice ale glicocolului. Creşte mult în intoxicaţia cu plumb.
—	La aceste concentraţii joase PBG nu poate fi detectat prin testul de orientare cu reactiv Ehrlich.
urme	Aproape toată uroporfirina din urina subiecţilor normali este reprezentată de izomerul I
0,5—1,5μg	Raportul între eliminarea urinară a izomerului I şi III este variabil.
25—75μg	Se elimină din organism exclusiv pe cale biliară şi în ultimă instanţă prin fecale.

Tabel 11—2

Alternanţa compoziţiei şi a localizării enzimelor implicate în porfirinogeneză

Enzimă	Substrat	Produs	Localizare	Grupul SH
ALA—S (acid δ-amino-levulinic-sintetaza)	Acid succinic + glicol.	ALA (acid δ-amino-levulinic)	Mitocondrii	—
ALA—D (acid δ-aminolevulinicdehidraza)	ALA	PBG (porfobilinogen)	Fază lichidă	+
Uro—S (Urogensintetaza)	PBG	Urogen I	Faza lichidă	—
Uro—CoS (Urogencosintetaza)	PBG	Urogen III	Faza lichidă	—
Uro—D (Urogendecarboxilaza)	Urogen I şi III	P7, P6, P5 Coprogen I şi III	Faza lichidă	+
Copro—D (coprogendecarboxilaza)	Coprogen III	P3, Protogen III (9)	Mitocondrii	—
Proto—O (Protogenoxidaza)	Protogen III (9)	Protoporfirina III (9)	Mitocondrii	+
Ferokelatază	Protoporfirina III (9) + Fe	HEM	Mitocondrii	+

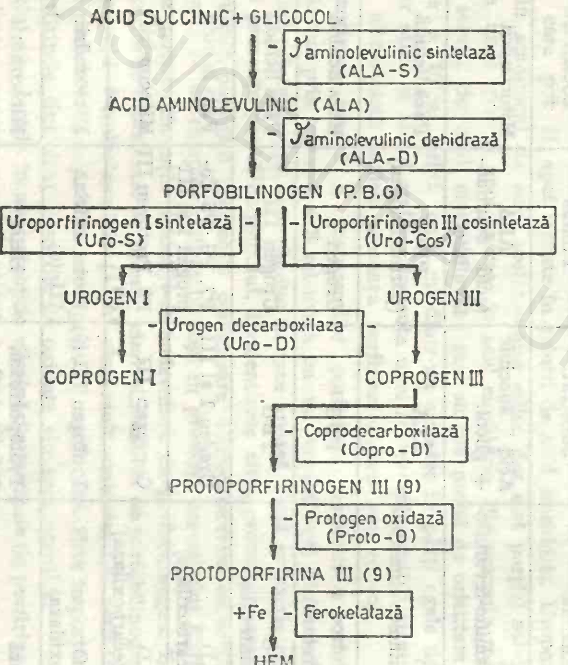


Fig. 11—5. Reprezentare schematică a etapelor succesive ale biosintezei hemului şi a enzimelor implicate în porfirinogeneză.

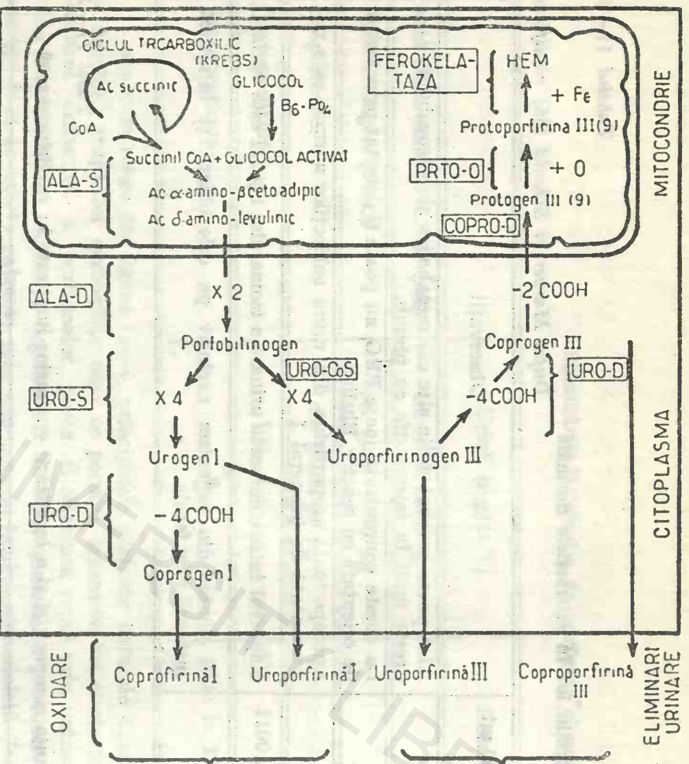


Fig. 11—6. În cursul biosintezei hemului, membrana mitocondrială este străbătută de două ori, ceea ce justifică importanţa ce se atribuie acestei membrane. Fenomenul este consecutiv localizării intra sau extramitocondriale a enzimelor implicate în porfirinogeneză.

Biosinteza porfirinelor

Indiferent de forma în care se găsesc în organism (libere sau ca hemoproteine), porfirinele au origine endogenă, fiind consecința unui lung și complicat proces metabolic, catalizat enzimatic, care se realizează în mai multe etape succesive (vezi fig. 11—5).

Aceste reacții enzimatice se desfășoară intra- sau extra- mitocondrial ceea ce sugerează importanța membranei mitocondriale pentru desfășurarea fiziologică a procesului (14), (vezi tabel 11—2 și fig. 11—6).

Biosinteza porfirinelor începe prin formarea acidului δ-aminolevulinic (ALA) din glicocol și succinilcoenzimaA (17). Această etapă implică formarea unui compus intermediar, acidul α amino-β-cetoadipic, care, prin decarboxilare, trece în ALA (13). De menționat că încorporarea glicocolului în ALA este condiționată de o prealabilă activare a acestui aminoacid de către piridoxalfosfat (respectiv vitamina B_6 fosforilată) (17). De asemenea, formarea succinilcoenzimei A implică prezența pantotenatului care intră în compoziția coenzimei A (3). Această prima etapă este catalizată de ALA-sintetază (ALA—S), o enzimă cheie, care s-a dovedit de o extremă importanță în reglarea întregului lanț metabolic (17). Asupra rolului ALA-sintetazei în procesul de control al porfirinogenezei se va reveni la pagina 229. Pasul următor este reprezentat de condensarea a două molecule de ALA sub acțiunea enzimei citoplasmatice ALA-dehidraza (ALA-D) și duce la formarea porfobilinogenului, precursorul monopirolic al porfirinelor. Această reacție este inhibată de către sărurile de plumb, iar scăderea activității ALA-dehidrazei și acumulările de ALA, consecutive blocului metabolic, reprezintă unul din primele indicii biochimice ale expunerii la plumb (35).

Prin ciclizarea a patru molecule de porfobilinogen se ajunge la formarea unor produși intermediari uroporfirinogen (urogen) coproporfirinogen (coprogen) și protoporfirinogen (protogen). Acesta din urmă se transformă în protoporfirină care înglobează un atom de fier și realizează hemul (17). Ceilalți cromogeni (urogen și coprogen) se oxidează în uroporfirină și coproporfirină numai atunci cînd sînt sintetizați în exces și ca atare sînt eliminați în urină (3). Procesul este reversibil deoarece prin reducerea porfirinelor în laborator s-a putut demonstra conversiunea în cromogenii corespunzători (fig. 11—3).

Porfirinogenii sînt nefluorescenți și apar sub două forme izomerice, I și III, ceea ce implică intervenția a doi factori enzimatici în etapa ciclizării tetrapirolice: uroporfirinogen I sintetaza (Uro-S) și uroporfirinogen III cosintetaza (uro CoS) (17).

În absența acesteia din urmă se produc doar izomeri I care nu pot fi utilizați (3) pentru sinteza hemului.

Într-o etapă următoare cele patru lanțuri acetice ale urogenului sînt decarboxilate sub acțiunea urogendecarboxilazei (uro-D) și rezultă coproporfirinogenul (I și respectiv III). Se pare că acest proces de decarboxilare a lanțurilor acetice se face treptat astfel că, în afară de urogenul cu opt funcții carboxilice (P8), coprogenul cu patru (P4) și protogenul cu două funcții carboxilice (P2), apar și alți produși intermediari cu 7, 6, 5 și 3 funcții carboxilice (P7, P6, P5 și P3) (9). Acești produși intermediari nu pot fi detectați în condiții biologice, dar cresc mult în cursul unor anumite porfirii (fig. 11–7).

Transformarea coproporfirinogenului (coprogen) în protoporfirinogen (protogen) se desfășoară la nivelul mitocondriilor sub influența coproporfirinogendecarboxilazei (copro-D). În cursul acestui proces două din grupările propionat se decarboxilează, transformîndu-se în grupări vinilinice. Așa cum rezultă din figura 11–7, doar coprogenul III se transformă în protogen, în timp ce coprogenul I și urogenul I reprezintă doar produși de deșeu, oxidîndu-se în porfirinele respective și eliminîndu-se (9, 17, 32).

În penultima reacție are loc oxidarea protogenului 9 (III) în protoporfirina 9 sub acțiunea protoporfirinogenoxidazei (protoO).

Această protoporfirină este singura porfirină care intervine ca atare în cursul biosintezei hemului (17), ceilalți produși intermediari fiind cromogeni sau mai exact porfirinogeni. Protoporfirina 9 este, dealtfel, singura porfirină care poate îngloba fierul (17).

În ultima reacție, desfășurată tot intramitocondrial și catalizată de ferokelatază (hemsintetază) are loc inserția fierului în nucleul tetrapirolic al protoporfirinei, formîndu-se astfel produsul final al reacției, respectiv hemul (43). Ferokelataza este stimulată de piridoxal fosfat și inhibată de sărurile de plumb. Ca și ALA sintetaza, ferokelataza pare a fi o enzimă inductibilă și poate fi inhibată prin

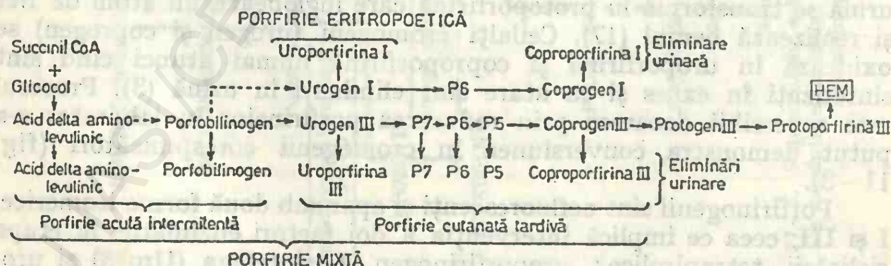


Fig. 11–7. Porfirinogeneza normală și patologică.

acumularea produsului final, respectiv prin hem, care urmează a fi încorporat în diferite hemoproteine.

Cea mai mare parte a hemului din organism se găseşte încorporat în hemoglobină (vezi cap. IX, p. 118) şi este sintetizat în măduva eritropoietică. Deşi sînt în cantitate mult mai redusă decît hemoglobina, hemoproteinele hepatice (triptofanoxidază, catalază, citocromii) prezintă un turnover extrem de accelerat (de exemplu, timpul de înjumătăţire al citocromului P_{450} este de abia 7—10 ore). Din acest motiv, utilizarea hemului pentru sinteza de hemoproteine hepatice şi implicit porfirinogenaza hepatică sînt deosebit de intense. O importanţă majoră prezintă citocromul P_{450}, denumit astfel din cauza maximului de absorbţie pe care îl prezintă în combinaţie cu oxidul de carbon la 450 nm. Acest citocrom intervine în detoxicarea, respectiv oxidarea unor steroizi şi a unor medicamente cum sînt barbituricele, precum şi în sinteza acizilor biliari (vezi pag. 194). De notat că citocromul P_{450} este inductibil, sinteza lui fiind stimulată de către însăşi medicamentele în a căror oxidare intervine.

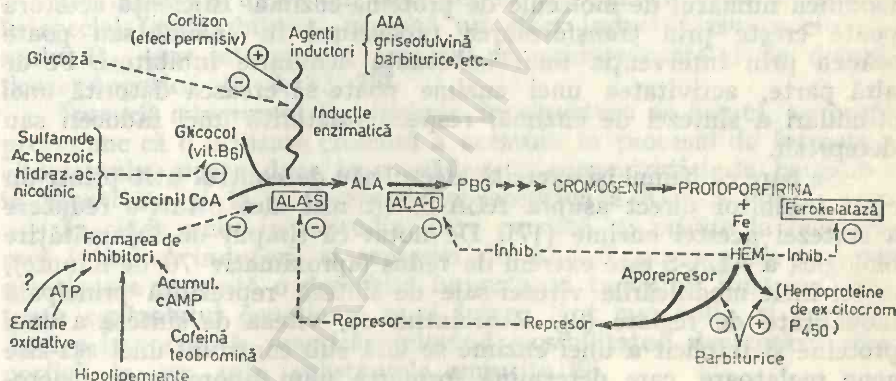


Fig. 11—8. Reprezentare schematică a mecanismelor de control a porfirinogenezei hepatice.

Linia întreruptă însoţită de semnul — înseamnă efect deprimant. Repr. = represie; Inhib. = inhibiţie. Aşa cum reiese din figură, reglarea sintezei de porfirine se poate efectua atît prin inhibiţia unor enzime (AL—S, ALA—D şi ferokelatază) cît mai ales prin represia sintezei de ALA—S.

Reglarea sintezei de porfirine

Porfirinogeneza se realizează cu eficienţă remarcabilă, majoritatea produşilor ajungînd pînă în faza finală a încorporării în hem în timp ce porfirinele libere neutilizate şi considerate drept deşeuri

metabolice reprezintă abia 5‰. Această eficiență a porfirinogenezei implică existența unui sistem reglator care asigură o sinteză perfect adaptată necesităților (2, 9, 13, 35). Se știe astăzi că întreg determinismul cantitativ al porfirinogenezei se hotărește înainte de formarea acidului δ-aminolevulinic (ALA) și este guvernat de activitatea și funcționalitatea enzimei *δ-aminolevulinicsintetaza* (ALA-S) (13, 17, 35). De fapt reacția catalizată de această enzimă este singura etapă energodependentă a întregului lanț metabolic (17). Conform datelor actuale, produsul final al porfirinogenezei, adică hemul, ar avea un efect inhibitor asupra ALA-S și prin acest mecanism de feedback negativ ar exercita un efect de control asupra porfirinogenezei încă din etapa inițială a procesului (35) (figura 11—8).

Pentru a înțelege mecanismul intim prin care se exercită controlul, este necesar să reamintim cîteva date recente privitoare la mecanismul prin care produșii de metabolism influențează activitatea sistemelor enzimatice (vezi vol. I, p. 36—37 și p. 108—109). Așa, de exemplu, activitatea unei enzime poate fi influențată fără a se modifica numărul de molecule de proteină-enzimă. Eficiența acestora poate crește prin transformarea proenzimei în enzimă sau poate scădea prin intervenția unor substanțe denumite inhibitori. Pe de altă parte, activitatea unei enzime poate să crească datorită unei stimulări a sintezei de enzimă, respectiv datorită unei induceri sau derepresii.

Se pare că hemul își exercită efectul său de control atît printr-un efect inhibitor direct asupra ALA-S, cît mai ales printr-o reducere a sintezei acestei enzime (17). De notat că timpul de înjumătățire biologică a ALA-S este extrem de redus (aproximativ 70 de minute), astfel încît modificările vitezei sale de sinteză reprezintă principala modalitate de reglare (2). Reamintim că, viteza de sinteză a unei proteine și implicit a unei enzime se află sub controlul unei așa-zise gene reglatoare, care determină formarea unui aporepresor macromolecular. Acest aporepresor, împreună cu o substanță micromoleculară provenită din procesele metabolice și denumită corepresor, exercită un efect negativ asupra producției de ARN mesager și implicit asupra sintezei de enzimă care se află astfel într-o stare de represie (vezi vol. I, pag. 36—37). După Granick (27), în cazul sintezei de porfirine, respectiv al enzimei ALA-S, hemul ar avea un rol de corepresor, iar acumularea acestui produs final al porfirinogenezei reprimă sinteza de ALA-S. De fapt adăugarea de hem la culturile de hepatocite a produs o reducere marcată a sintezei de ALA-S (32).

Pe de altă parte, o serie de compuși care produc porfirie experimentală la animale, și anume alilisopropilacetamida (AIA), griseofulvina, colidina și unele barbiturice determină o creștere pronunțată

a activităţii ALA-S şi o acumulare de porfirine în culturile de hepatocite (8, 15). Întrucît acest efect este prevenit de către inhibitorii sintezei de proteine (ciclofosfamida, puromicina) (43), se poate afirma că amplificarea activităţii ALA-S se datoreşte neoformării (inducerii) de enzimă. S-a presupus că substanţele porfirinogene (de exemplu alilizopropilacetamida) s-ar substitui hemului pe molecula de aporepresor (27). Această dislocuire a hemului împiedică formarea unui represor activ şi astfel sinteza de ALA-S este exagerată. În consecinţă, sinteza de porfirine, eliberată din frîna sa fiziologică, creşte exploziv (22). Pentru un astfel de mecanism pledează observaţiile după care adausul de hem în exces reduce mult acţiunea de inducere a ALA-S de către substanţele porfirinogene (3, 4). Pe de altă parte, este greu de imaginat că un număr relativ mare de substanţe cu structură variată, cum sînt barbituricele, griseofulvina, hexaclorbenzenul, etiocolanololul, AIA şi chiar alcoolul etilic să determine porfirie experimentală şi neoformare de ALA-S hepatică, prin acelaşi mecanism adică prin substituirea hemului pe aporepresor (13).

De notat că unele din substanţele mai sus amintite, cum este în special fenobarbitalul, exercită un efect inductor asupra citocromului P_{450} care intervine în procesul de oxidoreducere şi de detoxificare hepatică (2, 3, 32, 35).

Întrucît citocromul P_{450} include în structura sa hemul, se poate presupune că o utilizare crescută a acestuia în procesul de formare a citocromului poate duce la o scădere a concentraţiei de hem liber în hepatocite şi la o derepresie consecutivă a ALA-S (35).

În ciuda unor incertitudini care persistă cu privire la mecanismul intim al inducerii şi represiei de ALA-S, observaţiile mai sus menţionate prezintă o deosebită importanţă teoretică, ilustrînd existenţa controlului genetic al unui întreg lanţ metabolic, şi au totodată o importanţă practică, relevînd posibilitatea declanşării unei porfirii la om prin substanţele amintite (9).

S-a mai arătat recent, că o serie de hormoni steroizi favorizează inducerea ALA-S prin medicamente, fără ca respectivii hormoni să fie ei înşişi inductori (17). Deşi mecanismul, prin care aceşti hormoni steroizi îşi exercită „efectul permisiv”, nu este elucidat, faptul atrage atenţia asupra importanţei unor modificări hormonale în declanşarea anumitor porfirii, care apar de multe ori doar după pubertate (3, 9).

În opoziţie cu substanţele care produc o creştere a activităţii ALA-S şi o accelerare a porfirinogenezei, există şi compuşi care limitează acest proces (30). Aşa, de exemplu, este hemina (3), înrudită structural cu hemul, şi care pare să acţioneze prin mecanism de corepresor, prevenind inducerea de ALA-S (27). De asemenea, unele substanţe cu acţiune hipolipemiantă cum ar fi acidul nicotinic,

dimetil-izooxazolul, ca şi unele medicamente capabile să mărească nivelul intracelular de AMP ciclic, cum sînt cofeina, teofilina, dibutiril-ciclic AMP (17, 37) limitează producerea de ALA-S. Alături de efectul lor asupra „enzimei cheie", aceste substanţe intervin şi într-o etapă anterioară celei catalizate de ALA-S şi anume limitează producerea de succinil-CoA. Se bănuieşte că alte substanţe, cum ar fi D-penicilamina, hidrazida acidului izonicotinic, acidul benzoic, acidul paraaminobenzoic şi sulfamidele, diminuă formarea de porfirine, interferînd cu metabolismul glicinei, respectiv limitînd activarea acestui aminoacid de către piridoxalfosfat (35).

Menţionăm că unele experienţe au demonstrat că animalele supuse la o dietă bogată în hidraţi de carbon sînt refractare la inducţia ALA-S prin medicament. Mecanismul prin care se produce acest aşa-zis „efect de glucoză" nu este elucidat (35).

Aşa cum reiese din figura 11—8, controlul sintezei de porfirine se exercită nu numai asupra ALA-S dar şi asupra δ-aminolevulinicdehidrazei (ALA-D) precum şi asupra ferokelatazei (17). Aceste efecte sînt însă minime în comparaţie cu importanţa crucială a reglării sintezei de ALA-S. Există, cel puţin teoretic, posibilitatea ca sinteza acestei enzime să fie reglată de mecanisme genetice diferite, la nivelul ficatului, celulelor eritropoietice şi, eventual, în alte celule ale organismului (9). Multiplele forme ereditare de porfirie ar putea fi deci explicate prin mutaţii intervenite în variatele celule producătoare de hemoproteine.

Se susţine că metabolismul acizilor nucleici, şi în special un echilibru armonios al sintezei bazelor purinice şi pirimidinice, ar juca un rol esenţial, asigurînd utilizarea raţională (prin intermediul ciclului lui Schemin) (fig. 11—9) a acidului succinic care,

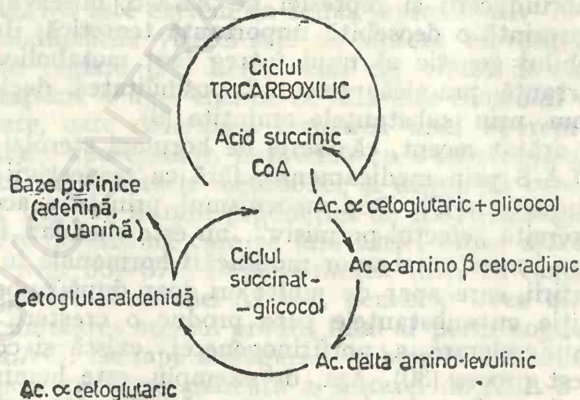


Fig. 11—9. Ciclul lui Shemin (după Gajdos (13). De notat că acidul δ-aminolevulinic, precursor al porfirinelor, poate fi utilizat şi pentru sinteza de baze purinice.

în condiții patologice, este orientat spre sinteza exagerată de acid δ-aminolevulinic. Corelat cu aceasta se consideră că ATP ar activa un inhibitor fiziologic cu rol în reglarea porfirinogenezei.

Menționăm că Labbe (13) susține că un mecanism important al reglării porfirinogenezei este condiționat de funcția sistemelor enzimatice oxidative. Deprimarea acestora stimulează o conversiune exagerată a fumaratului în succinat, fapt care are drept consecință exagerarea sintezei de porfirine (figura 11–8).

ANOMALII ALE METABOLISMULUI PORFIRINELOR. —PORFIRIILE—

Considerații privind clasificarea

Porfiriile sînt boli metabolice consecutive alterării procesului complex de sinteză, al cărui produs final este hemul, gruparea prostetică a hemoglobinei și a fermenților respiratori (18). Aceste tulburări se exteriorizează prin eliminarea unor cantități crescute de uroporfirine și precursori (ALA, PBG) în urină. Ele trebuie deosebite de eliminările de coproporfirine, așa-numitele coproporfirinurii simptomatice, care pot însoți diferite boli: saturnism, anemie Biermer, leucoze, boli febrile, în care tulburarea metabolismului porfirinelor este determinată de boala de bază și constituie doar o manifestare asociată (22).

În porfirii, tulburarea metabolică și eliminarea produșilor intermediari este responsabilă de apariția unor manifestări clinice variate: abdominale, cardiovasculare, neurologice sau cutanate. De aceea, ele prezintă interes atît pentru dermatologie și neurologie, cît și pentru diferite subspecialități ale medicinii interne (3). În special, porfiria acută intermitentă (PAI) poate îmbrăca aspecte clinice foarte variate, care constituie o importantă sursă de erori de diagnostic. Subliniind faptul că acești bolnavi sînt etichetați cu cele mai variate diagnostice (de la histerie și tabes pînă la colecistită acută și ocluzie intestinală sau epilepsie), Waldenström numește această boală drept „mica simulatoare" (citat de 3).

Abordarea problemei porfiriilor lasă la început o impresie derutantă. Bogăția și calitatea informațiilor biochimice și fiziopatologice care se referă la funcționalitatea infrastructurilor celulare ar sugera un domeniu în care cercetările au pătruns foarte adînc în înțelegerea intimității fenomenelor. Cunoștințele biochimice privind sinteza hemului și porfirinelor, aprofundarea rolului precursorilor,

descoperirea şi izolarea în formă purificată, a unui mare număr de enzime implicate, studiul căilor metabolice corelate (ciclul succinat-glicină, metabolismul purinelor) dau în adevăr impresia că ne găsim în faţa unor tulburări metabolice pe care ştiinţa le-a descifrat şi le stăpîneşte integral. În realitate, informaţiile teoretice, incontestabil foarte abundente, nu au un corolar aplicativ corespunzător. În special, consecinţele terapeutice sînt insuficiente şi deci nesatisfăcătoare.

Studiind fluorescenţa diferitelor ţesuturi ale bolnavilor cu variate forme de porfirie ajunşi la necropsie, Schmit, Schwartz şi Watson au observat, în 1954, că la bolnavii cu boala Günther numai măduva osoasă prezintă fluorescenţă roşie în lumina ultravioletă, în timp ce, la bolnavii cu alte forme de porfirie, fenomenul era localizat doar în ţesutul hepatic (9). Această constatare aparent simplistă s-a dovedit deosebit de importantă şi a devenit criteriul cel mai potrivit de clasificare. Astfel s-au conturat două categorii de porfirii: porfiriile eritropoietice şi porfiriile hepatice. Alţi factori invocaţi: genetici, chimici, biochimici sau patogenetici sînt atît de intricaţi în diferitele forme de porfirie, încît nu pot constitui criterii utile de separare. Studiile recente au identificat două entităţi clinice noi: protoporfiria eritropoietică şi coproporfiria eritropoietică, care se particularizează prin urticarie solară şi nu se însoţesc de eliminări urinare de porfirine. În aceste forme, diagnosticul a devenit posibil numai prin evidenţierea unor cantităţi crescute de porfirine (respectiv protoporfirină sau coproporfirină) în hematiile circulante (38, 43). Această particularitate a sugerat originea eritropoietică a porfirinelor. În realitate, studiul diferitelor ţesuturi în lumina ultravioletă a demonstrat că, în aceste două entităţi, fluorescenţa apare atît în măduva hematoformatoare cît şi în ficat. Această constatare a justificat constituirea unui nou grup de porfirii — porfiriile eritrohepatice (43).

De aceea în prezent se acceptă următoarea clasificare:

1. PORFIRIA ERITROPOIETICĂ
   Uroporfiria congenitală (Boala lui Günther)
2. PORFIRII ERITROHEPATICE
   Protoporfiria eritrohepatică
   Coproporfiria eritrohepatică
3. PORFIRII HEPATICE
   a) Strict ereditare
      Porfiria acută intermitentă (PAI)
      Porfiria mixtă (Variegata, PV)
      Coproporfiria ereditară

b) Cu condiționare exogenă

Porfiria cutanată tardivă (PCT)

Porfiria din „porfirinom"

Porfiria turcă

Porfiria congenitală eritropoietică. Boala Günther

Uroporfiria congenitală este forma cea mai rară dar și cea mai severă de porfirie (43). Așa se explică paradoxul că în ciuda rarității (pe plan mondial s-au înregistrat mai puțin de 100 observații sigure) (35), a fost prima porfirie descrisă clinic la care s-a precizat relația cu o tulburare biochimică a porfirinelor. Descrisă de Günther la un bolnav cu leziuni mutilante „celebrul caz Petry", ea a beneficiat de talentul biochimistului Hans Fischer, care, în urma unui studiu laborios, a descoperit uroporfirina (13). Descrierea clinică a fost magistrală și a rămas valabilă și în prezent, ceea ce justifică denumirea de boala lui Günther. Ulterior, Schmit, Schwartz și Watson, studiind distribuția tisulară a porfirinelor la bolnavi cu porfirie congenitală, au găsit o mare cantitate în măduva hematoformatoare, pe lîngă acumulări hepatocitare normale. De aceea, Watson a enunțat ideea sediului medular al tulburării biochimice și a propus denumirea de porfirie eritropoietică (17). Deoarece tulburarea biochimică principală constă în excesul de uroporfirină I, unii autori utilizează (în scop didactic) denumirea de uroporfirie eritropoietică.

Boala este ereditară, transmisă recesiv, nelegat de sex, dar cu expresivitate majoră, astfel că semnele clinice, adesea impresionante, apar foarte devreme, uneori din primele zile după naștere. Aceasta a condiționat denumirea de porfirie congenitală.

Tabloul clinic este dominat de manifestările cutanate, datorate efectului fotosensibilizant al porfirinelor acumulate dermic (43). Aceste manifestări sînt asemănătoare (deși mai intense) (42) cu cele ale porfiriei hepato-cutanate, cu care a fost adesea confundată. Ele constau în asocierea hiperpigmentației, hirsutismului și bulelor, care se localizează caracteristic în zonele expuse la lumină. Recrudescența sezonieră a bulelor a justificat vechea denumire de „hidroa estivale" (42). Suprainfectarea bulelor determină o evoluție particulară, cu ulcerații și vindecare prin cicatrici vicioase sau mutilări severe ale extremităților (falange, urechi, nas) (35). Tabloul nu se limitează însă la manifestările cutanate. De aceea, după Schmid, pentru diagnostic sînt necesare următoarele criterii (13) : a) apariția fotosensibilității,

din primii ani de viață, cu leziuni buloase ale pielii; b) hipertricoză, hirsutism și pigmentație brună a zonelor cutanate expuse la lumină; c) absența manifestărilor abdominale și neurologice; d) eritrodonție (colorație brună a dinților, ce dau o fluorescență roșie în lumina ultravioletă), explicată prin afinitatea porfirinelor pentru fosfatul de calciu, evidențiată și la alte segmente ale scheletului; e) excreția, de la naștere sau din primii ani de viață, de urină roșie, cuprinzînd mari cantități de uro- și coproporfirine, fără creșterea nivelului urinar de PBG; f) splenomegalie însoțită de anemie hemolitică; g) fluorescență roșie în lumina ultravioletă a eritroblaștilor și eritrocitelor în măduva osoasă și în sîngele circulant.

Asocierea manifestărilor hematologice contribuie de fapt la conturarea unui profil particular. Este vorba de o anemie hemolitică normocromă cu reticulocitoză și normoblaști circulanți, cu eritroblastoză medulară, splenomegalie și eliminare crescută de stercobilinogen. Splenectomia s-a dovedit însă utilă numai în cîteva observații (42).

Pe plan biochimic, boala Günther, pe lîngă cea mai exprimată producție de porfirine (tradusă printr-o excreție zilnică masivă ce poate ajunge la 500 mg), prezintă cîteva caractere particulare și în special o anumită distribuție a porfirinelor în diferitele produse biologice.

Izomerii de tip I domină într-o proporție de 90% dar, în același timp, izomerii de tip III sînt sintetizați în exces, fenomen posibil numai în condițiile hiperproducției globale a porfirinelor (42). După Watson, enorma excreție de izomeri de tip I ar realiza un fenomen de contaminare, cu aparența falsă a fracțiunilor de tip III în cursul analizei izomerilor prin metodele actuale. Această interpretare are însă mai mult o semnificație doctrinară decît practică (35). În realitate, în cursul puseelor hemolitice se elimină mari cantități de stercobilinogen, care nu pot proveni decît din izomerii de tip III (singurii care se înglobează în structura hemului) (42).

În urină, este caracteristică absența precursorilor (ALA și PBG) și prezența excesivă de uroporfirină I. În scaun, apar cantități mari de coproporfirine I și cantități mai mici de uroporfirină I și izomeri de tip III (40). Protoporfirina 9 din scaun nu depășește valorile normale. Eritrocitele prezintă fluorescență, deoarece conțin mari cantități de uroporfirină I (pînă la 500 μg/100 ml).

Pentru explicarea acestei ecuații particulare a porfirinelor, evident responsabilă de tabloul clinic, s-au enunțat mai multe ipoteze (7).

Sinteza exagerată a ambilor izomeri se poate realiza numai în condițiile unei activități crescute a ALA-S, corelată cu hiperactivita-

tea enzimelor capabile să ciclizeze patru molecule de porfobilinogen într-un inel porfirinic (şi anume uro I sintetază şi uro III cosintetaza). În anii 1960, Watson susţinea, în conformitate cu concepţia lui Jacob şi Monod, că sinteza crescută de izomeri I s-ar explica prin dezechilibrul dintre urogen I sintetaza, responsabilă de formarea urogenului I, şi urogen III consintetaza, responsabilă de formarea urogenului III în favoarea primei enzime. Urogen I sintetaza s-ar forma în exces datorită inactivării inhibitorului fiziologic (13). Anomalia ar apare ca urmare a unei mutaţii a genei represoare corespunzătoare.

Tschudy (2) a susţinut existenţa a două populaţii de normoblaste, una cu nivel fiziologic al cosintetazei, cealaltă cu nivel scăzut al acestei enzime. Eritroblastele normale ar asigura o sinteză suficientă de izomeri III, capabili să compenseze hemoliza, în timp ce eritroblastele patologice ar fi responsabile de supraproducţia izomerilor I.

În prezent, există dovezi certe privind scăderea reală a urogencosintetazei (UroCoS) (7), care însă nu este atît de exprimată încît să ducă la o perturbare gravă a sintezei hemoglobinei (42). Astfel, în timp ce la martori activitatea uroporfirinogen III cosintetazei eritrocitare oscilează între 1900—6480 u/g hemoglobină, la bolnavi se înregistrează numai 50—800 u/g hemoglobină. De notat însă că, la purtătorii asimptomatici ai tarei, activitatea enzimei are valori intermediare între nivelele normale şi cele găsite la indivizi cu boala Günther clinic manifestă (43). Este important de subliniat şi faptul că deficitul de urocosintetază nu apare niciodată la cazurile de porfirie cutanată tardivă, fapt utilizat în diagnosticul diferenţial (35, 40).

În studiile genetice, acest deficit a făcut posibilă precizarea modului recesiv autosomal de transmitere (35). El permite depistarea purtătorilor asimptomatici ai tarei şi instituirea măsurilor de profilaxie.

Creşterea discretă a compuşilor de tip III ar putea fi explicată prin scăderea relativă a sintezei hemului care poate antrena o hiperactivitate a ALA-S şi deci o creştere a tuturor precursorilor.

Unele cercetări recente (14) au adus precizarea naturii moleculare a deficitului de UroCoS. Studiindu-se rezistenţa UroCoS la denaturarea termică, se constată că enzima indivizilor bolnavi rezistă mai bine la 45° decît enzima indivizilor normali (42). Aceasta demonstrează că este vorba de un defect al genei structurale a consintetazei şi nu a genei reglatorii, cum se credea. Acest punct de vedere este ilustrat de dozarea activităţii enzimatice, la 45°C, într-o familie

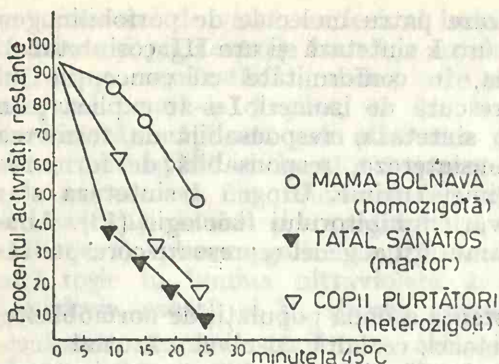


Fig. 11—10. Rezistenţa crescută la temperatura de 45° a urogencosintetazei la bolnavii cu porfirie eritropoietică (aşa cum reiese din figură) demonstrează că la baza tulburărilor este un defect al genei structurale a enzimei. Un defect al genei reglatorii ar determina numai modificări cantitative ale enzimei (după Levin citat de Perrot) (42).

în care mama era bolnavă (homozigotă), tatăl sănătos (martor), iar cei doi copii purtători sănătoşi (heterozigoţi) (fig. 11—10).

Leziunile cutanate sînt categoric datorate fotosensibilizării prin porfirinele acumulate în ţesuturi (în special dermic) în cantităţi excesive. Gradul sensibilităţii cutanate se corelează strîns cu conţinutul plasmatic al uroporfirinei I. Nu pare să existe o relaţie cu excreţia urinară. Episoadele hemolitice sînt atribuite conţinutului eritrocitar în uroporfirine care determină o fragilitate particulară.

Porfirii eritrohepatice

Protoporfiria eritrohepatică (Boala lui Magnus)

Cu toate că ultimele informaţii o consideră drept cea mai frecventă formă de porfirie cutanată, protoporfiria eritrohepatică a fost conturată ca atare destul de recent. Tabloul clinic dominat de urticarie solară, descris de Kosenow, a fost asociat multă vreme cu grupul fotodermatozelor, la care fotosensibilizarea nu este condiţionată de alterarea metabolismului porfirinic. Această atitudine s-a datorat absenţei porfirinelor în urină, precum şi faptului că tabloul cutanat este complet diferit de al celorlalte porfirii cunoscute. Substratul biochimic şi corelaţia cu metabolismul porfirinic a fost precizat de Magnus (1961), care a descoperit cantităţi crescute de protoporfirină 9 în eritrocite şi conţinutul intestinal. Ulterior, verificarea fluorescenţei tisulare în lumina ultravioletă a sugerat că, spre deosebire de celelalte porfirii cu localizare unitisulară a leziunii biochimice, alterarea metabolismului porfirinic are loc atît în ficat cît şi în măduva hematoformatoare. Aceasta a impus conturarea unei noi clase de porfirii — porfiriile eritrohepatice — în care a fost inclusă protoporfiria şi mai tîrziu şi coproporfiria „eritrohepatică" (2).

Studiile genetice au certificat caracterul ereditar și modul de transmitere autosomal dominant (35). Se subliniază însă că expresivitatea genei este variabilă; în aceeași familie, intensitatea manifestărilor fiind foarte diferită.

Boala începe, de obicei, înaintea vîrstei de 5 ani și, uneori, chiar din primele săptămîni ale vieții, ceea ce atestă puternica expresivitate a tarei. Aceasta apare și mai evident dacă remarcăm că majoritatea observațiilor înregistrate au fost heterozigoți (42, 43).

Condițiile climaterice diferite ar explica incidența geografică variată (7). Singura manifestare clinică este urticaria solară ce se poate instala după o expunere scurtă de cîteva minute. Ea poate fi precedată de prurit, uneori atroce, și chiar de fenomene generale variate, de la astenie și cefalee, pînă la oscilații tensionale importante cu colaps. Plăcile eritematoase regresează treptat în decurs de 1—3 săptămîni, lăsînd uneori cicatrici sub forma unor depresiuni punctiforme sau cupuliforme, care pot realiza un aspect varioliform la nivelul feței.

Mai importantă este apariția unor suferințe hepato-biliare la femei (7). S-au semnalat astfel litiaza biliară, cu calculi bogați în protoporfirină, și mai ales o hepatopatie particulară, caracterizată prin acumularea de granule de protoporfirină în citoplasma hepatocitelor, colestază intrahepatică și fibroză periportală.

Pe plan biochimic, se constată un exces de protoporfirină în eritroblaste, hematii, țesutul hepatic, plasma sanguină și conținutul intestinal (40). Acest aspect contrastează cu excreția normală de porfirine și precursori, astfel că metodele semicantitative nu evidențiază prezența de porfirine în urină (13). Este specifică fluorescența hematiilor circulante care trebuie căutată la microscopul cu fluorescență folosind, așa cum a indicat Magnus, o sursă luminoasă de 400 nm, corespunzînd bandei Soret a protoporfirinei (40). Precizăm că numai 20—30% din hematii prezintă fluorescență, deoarece numai celulele mai tinere au un conținut suficient de protoporfirină (42).

În concluzie, diagnosticul sugerat de semnele clinice ale urticariei solare este confirmat de fluorescența hematiilor circulante și de creșterea cantității de protoporfirină în eritrocite și scaun (35). Boala trebuie diferențiată de fotodermatozele polimorfe, cu manifestări cutanate uneori asemănătoare, dar la care fluorescența eritrocitară lipsește, precum și de coproporfiria eritrohepatică, cu simptome absolut identice, dar la care găsim o creștere a coproporfirinelor în eritrocite (42).

Trebuie subliniat că fluorescența hematiilor și creșterea protoporfirinei eritrocitare este prezentă și în saturnism, anemii siderope-

nice şi după tratamentele cu griseofulvină, situaţii care însă nu se însoţesc de urticarie solară. Ele au contribuit însă la elucidarea patogenezei protoporfiriei (9). În ciuda faptului că expunerea la ultraviolete a evidenţiat fluorescenţă atît la nivelul măduvei hematoformatoare cît şi la nivelul ficatului, ipoteza localizării duble a alterării biochimice nu a fost acceptată cu uşurinţă (7). S-a susţinut că protoporfirina de origine eritroblastică se pierde din hematii în plasmă, de unde este preluată de hepatocite. Faptul că fluorocitele sînt eritrocite tinere (hematiile mature neprezentînd fluorescenţă) susţinea ideea pierderii eritrocitare de pigment (7). În această concepţie, fluorescenţa hepatocitară ar fi secundară depozitării şi nu ar indica participarea hepatică în patogeneză (fig. 11—11). A atras atenţia cantitatea enormă de protoporfirină 9 eliminată în scaun şi care depăşeşte zilnic de 50 de ori cantitatea teoretică de protoporfirine din întreaga masa eritrocitară. De fapt, studiile genetice au demonstrat că unii membrii ai frateriilor implicate prezentau numai eliminare intestinală crescută de protoporfirine, fără creşterea concentraţiei eritrocitare de pigment. S-a remarcat, de asemenea, o corelaţie identică cu cea din porfiriile hepatice între aportul de calorii şi eliminarea porfirinelor, atribuită „efectului de glucoză", specific enzimelor hepatocitare (43). Mai mult decît atît, ipoteza unui exces de protoporfirină hepatocitară, eliberată în plasmă şi adsorbită ulterior de hematii a fost verificată în porfiria experimentală cu griseofulvină (42, 43). Problema a fost reluată într-un studiu recent al lui Scholnick care, utilizînd protoporfirina dublu marcată cu ^{14}C-glicină şi ^{3}H-ALA *in vivo*, a demonstrat că sinteza crescută de protoporfirine are loc atît în ficat cît şi în eritrocite, dar cu precădere hepatocitar (35). Studii izotopice ulterioare (4, 46) pe diferite tipuri de ţesuturi (hematii, omogenate hepatice, fibroblaste cutanate) au demonstrat un deficit impresionant al ferokelatazei, enzimă ce asigură înglobarea atomului feros în inelul porfirinic. Deficitul enzimatic se cifrează la valori de 8—14% din activitatea normală (14).

Creşterea protoporfirinei eritrocitare nu poate explica fotosensibilizarea, deoarece saturnismul şi sideropeniile (caracterizate prin hiperprotoporfirie eritrocitară) nu se însoţesc de urticarie solară (17). Studii recente au demonstrat că în boala lui Magnus, protoporfirina este calitativ diferită, fiind incapabilă să se combine cu metale (7). Această protoporfirină necompletată cu metale nu se poate fixa pe globină şi rămîne în plasmă, unde se combină cu albumina sau hemopexina (1, 7). În prezent, se acceptă că această protoporfirină plasmatică este responsabilă de apariţia fotosensibilizării (9).

Sintetizînd datele actuale (7) se poate spune că în protoporfiria eritrohepatică, porfirinogeneza intensă din măduvă şi ficat, duce la

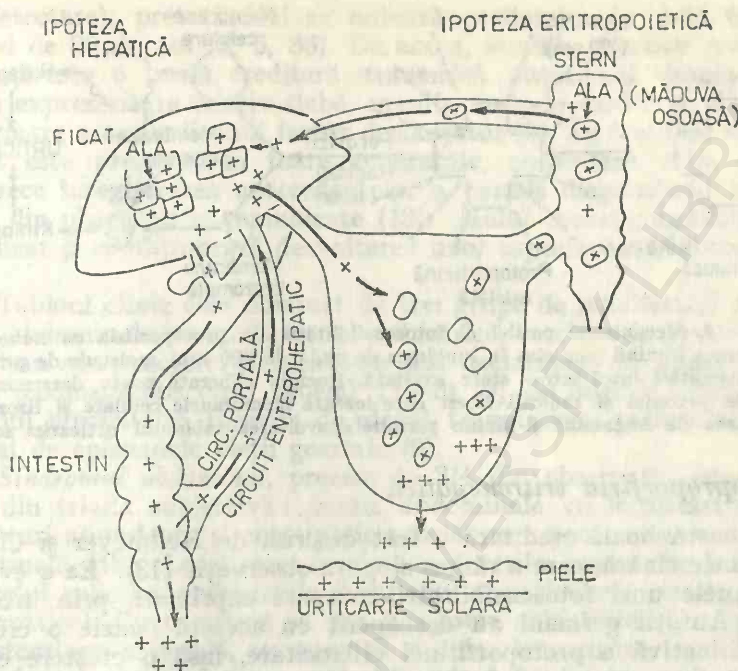


Fig. 11—11. Excesul protoporfirinei în protoporfiria eritrohepatică poate avea două origini; hepatică şi extrahepatică. + = protoporfirină 9; 0 = hematii; □ = hepatocite. Protoporfirina poate lua naştere din ALA atît în ficat cît şi în măduva hematopoietică. În ipoteza eritropoietică, ea este eliberată din hematii. În ipoteza hepatică, protoporfirina, de origine hepatică, pătrunde în hematii şi în plasmă. O parte din protoporfirina de origine hepatică este recirculată prin ciclul enterohepatic.

apariţia unei protoporfirine patologice, slab legată de globina eritrocitară şi care se acumulează în plasmă (vezi fig. 11—12). Ea este capabilă să absoarbă energia luminoasă intrînd într-o stare moleculară excitată. Ulterior, protoporfirina tinde să revină la starea iniţială pierzînd, prin fluorescenţă, energia absorbită (1, 2, 9). Energia eliberată determină formarea de radicali liberi şi peroxizi, care pot afecta integritatea membranelor lizozomale şi celulare epiteliale sau din capilarele dermice. Sînt leziuni care determină eliberarea mediatorilor chimici, de tipul histaminei (responsabilă de apariţia eritemului) şi a kininelor, responsabile de apariţia edemului tardiv şi a pruritului.

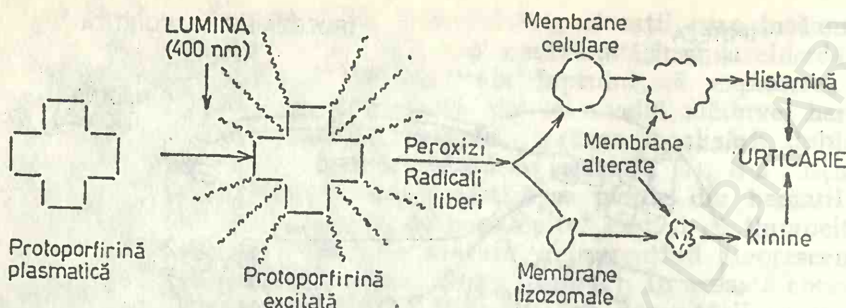


Fig. 11—12. Mecanismul posibil al fotosensibilității din protoporfiria enterohepatică. Sub acțiunea luminii (mai ales la lungimea de undă de 400 nm) molecula de protoporfirină plasmatică intră într-o stare excitată. Energia eliberată poate determina formarea de peroxizi și radicali liberi care lezează membranele celulare și lizozomale. Eliberarea de histamină și kinine permite dezvoltarea tabloului urticariei solare.

Coproporfiria eritrohepatică

Această boală ereditară a fost descrisă de Heilmeyer și Clotten la o femeie tînără, care a rămas singura observație (13). Ea a evoluat cu semnele unei fotosensibilizări cutanate exprimată prin urticarie solară. Autorii germani au descoperit cu această ocazie o creștere nesemnificativă a protoporfirinei eritrocitare, însă o creștere extraordinară de coproporfirină III. Ca și în protoporfiria eritrohepatică nivelul porfirinelor și precursorilor rămîne normal în urină. Natura ereditară a fost sugerată de faptul că mama bolnavei, deși nu prezenta manifestări cutanate, avea aceeași creștere a coproporfirinei eritrocitare. S-a presupus că tara se transmite în mod dominant, cu o penetranță variabilă. Cu toate că studiile experimentale au demonstrat că coproporfirina este mai fotosensibilizantă decît protoporfirina, fotosensibilizarea în această boală este mai redusă decît în protoporfiria eritrohepatică. În ce privește mecanismul patogenic, Heilmeyer și Clotten au enunțat ipoteza unei oxidări anormal de rapide a coproporfirinogenului în coproporfirină, cu acumularea secundară a acesteia în eritrocite.

Porfiriile hepatice

Porfiria acută intermitentă (PAI)

Este considerată ca forma cea mai frecventă de porfirie, constituind, după unii, 60% din observații (37). Cu toate că distribuția geografică a incidenței este foarte variată (în funcție de posibilitățile

de detectare), pretutindeni se notează predominanţa netă în jurul vîrstei de 30 de ani (3, 5, 36). De aceea, studiile genetice precizează că deşi este o boală ereditară transmisă autosomal dominant, ea are o expresivitate relativ slabă, manifestîndu-se tardiv şi, de obicei, ca urmare a acţiunii unui factor declanşator (9). În familiile afectate, boala este prezentă în toate generaţiile, constatare utilă practic, deoarece înregistrarea antecedentelor a permis diagnosticul în peste 50% din observaţiile comunicate (13). Rolul consanguinităţii a fost certificat şi condiţionează dezvoltarea unor aspecte deosebit de severe (32).

Tabloul clinic este dominat de trei grupe de manifestări paroxistice: abdominale, neurologice şi psihiatrice, care pot interveni izolat, simultan sau succesiv. Fenomenele sînt declanşate de administrarea unor medicamente (vezi tabelul 11—3) (9) de infecţii intercurente, regimul hipocaloric, ingestia de alcool, traumatisme psihice sau chiar numai de episoadele vieţii genitale (9).

Sindromul abdominal, prezent la 3/4 din observaţii, constă mai ales din triada subiectivă: dureri abdominale cu localizări variate, vărsături abundente şi constipaţie rebelă, care poate sugera o ocluzie intestinală (18). Localizarea variată a durerilor poate simula integral capitolul colicilor abdominale (ovariene, apendiculare, renale, biliare, pancreatice). Concomitent se pot înregistra subfebrilităţi, tahicardie, hipertensiune arterială, transpiraţii şi chiar leucocitoză, care întăresc suspiciunea unui abdomen acut chirurgical (3). Pe de altă parte însă, semnele obiective lipsesc, iar abdomenul rămîne suplu fără contractură (35). În aceste situaţii este bine să se noteze coloraţia urinii. Ea poate fi roşie de la emisie sau se colorează numai după cîteva ore (37). Urmărirea sistematică a porfirinelor şi porfobilinogenului ar putea evita multe laparotomii exploratorii (37). În realitate, erorile de diagnostic sînt frecvente, iar bolnavii sînt operaţi, pe de o parte inutil (deoarece intervenţia nu descoperă modificări morfologice), şi riscant (deoarece anestezia şi sedativele pot induce o agravare importantă, cu apariţia manifestărilor neurologice şi psihice). Sindromul abdominal durează de la cîteva zile la cîteva săptămîni.

Sindromul neurologic poate să însoţească manifestările abdominale sau să se prezinte independent. Are o expresie foarte variată, dar, în mod obişnuit, se prezintă sub forma unei neuropatii periferice de tip poliradiculonevritic, cu tulburări motorii şi senzitive subiective şi obiective (13). Paraliziile se localizează mai frecvent la extensorii degetelor (pseudoparalizie de tip saturnin) sau la ridicătorii piciorului (39). În general, atingerea periferică este de tip flasc cu amiotrofie exprimată şi rapidă (45). Subiectiv, domină durerile penibile la nivelul trunchiului şi membrelor. De notat că explorările paraclinice

(examenul LCR, electromiograma, electroencefalograma) sînt de obicei normale.

Procesul patologic poate interesa şi nervii cranieni: facialul, oculo-motorii, trigemenul şi, mai rar, glosofaringianul cînd apar tulburări de deglutiţie (13).

Instalarea insuficienţei respiratorii este o eventualitate frecventă şi de aceea trebuie privită ca o ameninţare permanentă în cursul manifestărilor paroxistice. Ea poate fi periferică, consecinţa afectării muşchilor respiratori (diafragm, intercostali) (44) sau centrală, prin interesarea bulbului, cu paralizia centrilor respiratori şi cardiovasculari (13). Semnele premonitorii ale insuficienţei respiratorii (tulburări de deglutiţie, polipnee, cianoză) trebuie căutate atent şi cu perseverenţă (3, 45), în vederea instituirii rapide a măsurilor moderne de reanimare (39). Totuşi trebuie să recunoaştem că prognosticul a rămas foarte rezervat, în ciuda perfecţionării măsurilor de respiraţie asistată (13). Uneori instalarea fenomenelor neurologice începe cu o criză comiţială, epileptiformă, care trebuie identificată rapid drept o manifestare a porfiriei. Altfel, administrarea logică de barbiturice antrenează accentuarea fenomenelor, cu realizarea unui cerc vicios ce se sfîrşeşte în paralizie respiratorie (39, 47).

Frecvenţa manifestărilor psihice au impus conturarea unui *sindrom psihiatric*. Aşa cum a demonstrat Wetterberg aceste manifestări nu sînt expresia unui teren psihic particular familiar, ci sînt consecinţa directă a bolii (36). Polimorfismul şi marea variabilitate a acestor manifestări fac dificilă o descriere condensată. S-au semnalat aspecte pitiatice sau schizofrenoide, comportament paranoic, delir de interpretare cu autoacuzare, manifestări depresive cu tendinţă la suicid (45). Din fericire toate aceste aspecte sînt complet reversibile. Tabelul nr. 11—4 ilustrează, în ordinea frecvenţei, aspectele clinice ce pot apare în cursul perioadelor paroxistice.

În ultimul timp, se subliniază importanţa unor tulburări hidroelectrolitice. Iniţial hiponatremia a fost corelată cu vărsăturile frecvente care însoţesc colicile abdominale (47). Ulterior, s-a precizat că hiponatremia nu se asociază cu scăderea volemiei, realizînd un tablou asemănător cu cel din sindromul paraneoplazic al lui Schwartz-Barrter, secundar unei secreţii nepotrivite de hormon antidiuretic şi evoluînd cu retenţie de apă (vezi vol. I p. 283). La bolnavii cu PAI, aceste manifestări însoţesc însă leziuni hipotalamice şi ale nucleilor supraoptici şi paraventriculari, ceea ce explică hipersecreţia de hormon antidiuretic (32).

Hematologic, în afara leucocitozei din cursul perioadelor paroxistice, se notează tendinţă la anemie hipocromă.

Evoluţia crizelor dureroase abdominale este rapidă, spre remisiune spontană. Manifestările neuropsihice cedează mai lent, în 2—3 luni. Toate manifestările acute sînt urmate de perioade variate (de la cîteva săptămîni la cîţiva ani) de latenţă clinică (13).

Pe plan biochimic este caracteristică eliminarea urinară crescută de precursori (ALA şi PBG). PBG se poate cuantifica pînă la cîteva sute de miligrame la zi. Eliminarea ALA, deşi mai redusă, înregistrează valori apropiate. Cu toate că excreţia precursorilor reprezintă trăsătura caracteristică a bolii (şi singura care permite diagnosticul) precizăm că în urină se găsesc de asemenea cantităţi crescute de uroporfirină III şi coproporfirină III. Faptul că urina se colorează în roşu numai după expunerea la lumină, a sugerat că formarea porfirinelor are loc după emisie sub influenţa razelor ultraviolete şi a oxidării (35). De fapt culoarea roşie este condiţionată în parte şi de formarea porfobilinei, produs direct de oxidare a porfobilinogenului (37). Spre deosebire de porfiria eritropoietică (boala lui Günther), unde porfirinele sînt eliminate sub formă liberă, în PAI, uroporfirina este prezentă mai ales sub forma unor complexe metalice cu zincul (35). Este semnificativă o eliminare intestinală redusă de porfirine, spre deosebire de eliminările intestinale masive de protoporfirine în porfiria variegata şi de coproporfirine în coproporfiria ereditară (39). Fenomenul are importanţă în diagnostic, întrucît aceste două forme de porfirie pot evolua cu manifestări absolut identice cu cele din PAI.

Cu excepţia ficatului, care conţine mari cantităţi de PBG, restul ţesuturilor nu prezintă depozite de porfirine sau precursori.

În concluzie subliniem că în PAI:

1) Singura modificare caracteristică este creşterea eliminării de precursori (ALA şi PBG);

2) Nu există un paralelism strict între intensitatea manifestărilor clinice şi cantitatea metaboliţilor excretaţi;

3) În cursul perioadelor de latenţă, eliminarea metaboliţilor poate să nu depăşească limitele fiziologice.

Această situaţie creează dificultăţi pentru precizarea diagnosticului în perioadele de latenţă. În aceste condiţii, se recomandă fie administrarea de glicocol (25 g, repetat la 2 zile), fie administrarea matinală a unei fiole de 2 ml fenobarbital 10% în propilenglicol, care determină, la bolnavii cu PAI, o excreţie crescută de PBG. Această metodă — aplicată numai în absenţa manifestărilor neurologice — a permis precizarea diagnosticului de porfirie la bolnave cu colici abdominale variate, care au impus intervenţii chirurgicale inutile, dar care la internare nu prezentau modificări ale porfirinelor urinare (25).

Natura defectului metabolic pare condiţionată de neoformarea excesivă a ALA-sintetazei în hepatocite (13). S-a sugerat că aceasta este consecinţa unei mutaţii a genei operatoare, care ar deveni rezistentă la represor (17). Sensibilitatea bolnavilor la barbiturice s-ar datora, în această concepţie, combinaţiei medicamentului cu aporepresorul, ceea ce ar determina inhibiţia represiei. Pe de altă parte administrarea orală a unor cantităţi mari de ALA, deşi determină o eliminare crescută de coproporfirine în scaun şi urină, nu realizează tabloul biochimic caracteristic pentru PAI (35). Pentru realizarea acestuia este necesară constituirea unui bloc enzimatic în calea ciclizării celor patru molecule de PBG (14). Numeroase observaţii au precizat că defectul enzimatic constă în diminuarea parţială, dar importantă (în jur de 50%), a activităţii uroporfirinogen I sintetazei (35) în hepatocite. Ulterior, acelaşi deficit s-a putut certifica în eritrocitele circulante, iar Strand a elaborat o metodologie care permite aprecierea sa curentă. S-a demonstrat că deficitul de uroporfirinogen I sintetază poate fi evidenţiat chiar şi în absenţa oricăror manifestări chimice sau biochimice, ceea ce permite depistarea tarei de la naştere, studiile genetice riguroase şi instituirea măsurilor de profilaxie în formele latente. Deşi se admite că deficitul uroporfirinogen I sintetazei explică acumularea de PBG, trebuie acceptat că el nu poate explica integral complexitatea fenomenelor. Intervenţia altor mecanisme, deşi probabilă, nu a putut fi ştiinţific demonstrată. Se presupune că reducerea sintezei hemului, ca urmare a deficitului de uroporfirinogen sintetază, ar stimula, prin mecanism feedback, producţia excesivă de ALA-S, antrenînd dezvoltarea în „cascadă" a tulburărilor metabolice (1, 2).

Durerile abdominale sînt datorate, probabil, unei neuropatii autonome, care determină o tulburare a motilităţii intestinale, cu segmente alternative de spasm şi dilataţie (3).

Deoarece manifestările neurologice şi abdominale apar numai în porfiriile hepatice, caracterizate prin creşterea excreţiei urinare de ALA şi PBG, responsabilitatea acestora a fost incriminată logic. S-a discutat capacitatea demielinizantă a PBG sau carenţa unor factori necesari mielinizării normale, ca urmare a porfirinogenezei aberante (45).

Recent — la bolnavii cu PAI — s-au descoperit concentraţii crescute sanguine şi urinare de criptopirol. Înrudit structural cu porfobilinogenul, criptopirolul a fost găsit şi în urina schizofrenicilor, iar la animale declanşează manifestări neuropsihice importante (3). Aceste observaţii sugerează o intervenţie posibilă a acestui compus şi în patogeneza manifestărilor din PAI (35).

Porfiria mixtă (variegata) (PV)

În jurul anului 1950, s-au descris, simultan în diferite zone geografice, observaţii familiale de porfirie, caracterizate prin apariţia, la acelaşi bolnav, a semnelor cutanate de porfirie cutanată tardivă (PCT), care se însoţeau de manifestări acute intermitente neurologice sau abdominale, identice cu cele din PAI. Boala a fost însă realmente individualizată de Dean şi Barnes, care au descoperit-o, la aproape 8 000 de persoane din populaţia albă a Africii de Sud. Într-un studiu genealogic, considerat ca cel mai frumos studiu genetic realizat în patologia umană (2, 13), ei au stabilit că toţi aceşti bolnavi sînt urmaşii unei femei imigrate din Olanda, căsătorită, în 1688, în Africa de Sud. Din cei opt copii, rezultaţi din căsătoria sa, patru prezentau semne evidente de porfirie. Aceşti patru strămoşi au transmis boala, de-a lungul a 14 generaţii, bolnavilor actuali din Africa de Sud. Studiul genetic a fost favorizat de împrejurarea că, la data efectuării lui, un milion, din cele trei milioane de locuitori albi ai ţării, erau descendenţii a 40 de familii cu arborele genealogic strict precizat (2).

Interesant este faptul că într-un studiu medico-istoric, McAlpin a demonstrat că această boală afectează familia regală engleză. Punctul de plecare l-a constituit diagnosticul retrospectiv de porfirie mixtă făcut lui George al III-lea, a cărui comportament „porfirinic" este imputabil, în sens anecdotic, unor greşeli politice ale Marii Britanii, între care şi pierderea coloniilor americane.

Deoarece caracterele clinice şi biochimice sugerează că este vorba de o boală genetică autonomă, Dean şi Barnes au propus numele de „porfiria variegata"; termenul de „porfirie mixtă", utilizat de Watson, este criticabil, deoarece poate lăsa să se înţeleagă existenţa unei combinări de două mutaţii.

Tabloul clinic este caracterizat prin prezenţa simultană sau alternativă a tuturor sindroamelor cunoscute în porfirii (cutanat, abdominal, neurologic, psihiatric), care se însoţesc de uro- şi coproporfirinurie în cursul manifestărilor cutanate, la care se adaugă eliminări de ALA şi porfobilinogenurie (pînă la 200 mg/24 h), în cursul manifestărilor acute intermitente (41). Eliminările de porfirine înregistrează o formulă particulară: eliminarea crescută de uroporfirine (P8) şi coproporfirine (P4). Suma acestora (P8 + P4) reprezintă 70% din totalul porfirinelor eliminate; de reţinut predominanţa coproporfirinei (P4), faţă de uroporfirină (P8). Tabloul este diferit de cel din PCT, în care eliminarea preferenţială interesează uroporfirina (P8) şi porfirina heptacarboxilică (P7), suma acestora (P7 + P8) reprezentînd 70% din porfirinele eliminate. În cursul perioadelor

de remisiune, eliminările de porfirină, prin urină, sînt normale, persistînd însă eliminările prin fecale. În cursul puseelor, aceste eliminări prin scaun ajung pînă la 500 μg/g materii fecale. Ele sînt constituite din coproporfirine (P4) şi protoporfirine (P2). În scaun, protoporfirina este proporţional mai crescută decît coproporfirina, permiţînd separarea netă a porfiriei variegata de celelalte porfirii hepatice (41). În adevăr în PCT şi în coproporfiria ereditară, eliminarea intestinală este formată practic din coproporfirine, iar în PAI nu există eliminări crescute de porfirine în scaun.

În mecanismul patogenetic este incriminată, pe de o parte, o creştere a ALA-S, întocmai ca şi în PAI şi coproporfiria ereditară, iar, pe de altă parte, un deficit de protoporfirinogenoxidază (17). În ce priveşte patogeneza simptomelor neurologice, abdominale şi cutanate, acestea au aceleaşi explicaţii ca şi manifestările similare din PCT şi PAI, fiind, dealtfel, induse de aceiaşi factori declanşanţi şi anume expunerea la lumină şi alcoolul, pentru manifestările cutanate şi barbituricele, pentru accidentele neurologice (41). Este memorabilă trista constatare a lui Dean, care, în încheierea studiului său, exclamă: „În ultimii 60 de ani, noi medicii din Africa de Sud am ucis, probabil inconştient, prescriind barbiturice, un mare număr de bolnavi" (13). Fraza rezumă riscul principal şi prognosticul sumbru. Se pare că, de fapt, aceşti bolnavi sînt şi mai sensibili la barbiturice decît cei cu PAI (3, 22).

Tabel 11—3

PRINCIPALELE MEDICAMENTE CONTRAINDICATE ÎN PAI (Prelucrat după concluziile „I international Porphyrin meeting" Freiburg, 1975)

Grupul	Medicamente
Somnifere, Analgezice	*Barbiturice*, *Sedormid*, trional, sulfonal, meprobamat, diazepam
Antipiretice, Analgezice	*Fenilbutazona*, *antipirina*, aminopirina, fenacetina, antipaludice de sinteză, chinină
Anestezice	*Steroizi anestezici (Hidroxipregnan)*, Cloroform, Halotan
Anticonvulsivante	Hidantoina, Misolin, Trimetadion
Hormoni	*Steroizi estrogeni* (anticoncepţionale)
Antibiotice	*Griseofulvina*, *Sulfamide*, Cloramfenicol, Izoniazida
Diverse	Fenilhidrazină Metale grele: plumb, mercur (diuretice mercuriale) Alcool
De reţinut şi	Dieta hipocalorică

Tabelul 11—4

Frecvența principalelor manifestări patologice din porfiria acută intermitentă, combinat după Gajdos (13) și Nordman (40)

Dureri abdominale	85—90%
Vărsături	60—80%
Constipație	50—80%
Pareze	45—50%
Tulburări motorii	40—53%
Hipertensiunea arterială	40—55%
Tahicardie	37—83%
Febră	37—40%
Delir	28—32%
Manifestări histeroide	16—20%
Cefalee	10—14%
Convulsii	10—12%
Leucocitoză	9—20%
Azotemie	9—10%
Albuminurie	8— 9%
Diaree	8— 9%
Oligurie	6— 7%
Hepatomegalie	5%
Icter	3%

Coproporfiria hepatică ereditară

Deși au existat unele observații izolate (Dobriner, Watson) de coproporfirinurie la bolnavi cu tulburări psihice, fenomenul nu a fost luat în considerare, deoarece coproporfirinuria a fost și este încă apreciată ca un simptom fără semnificație deosebită, asociat unor afecțiuni variate (35). Ideea unei boli ereditare, cu tablou propriu, condiționat de o hiperproducție de coproporfirine, a fost lansată pentru prima oară de Berger și Goldberg, în 1955, care au descoperit o eliminare masivă de coproporfirine III în urina și scaunul unui copil de 10 ani cu ariboflavinoză (13). Părinții (veri primari) și o mătușe prezentau aceleași manifestări biochimice. De aceea, s-a presupus că este vorba de o alterare biochimică ereditară benignă, fără răsunet patologic. Ulterior, s-au comunicat observații numeroase în care această alterare biochimică se însoțea fie de cele trei sindroame ale PAI, fie de tabloul complex al porfiriei variegata, cu manifestări cronice cutanate și acute intermitente (39).

Boala se transmite în mod dominant cu repartiție egală între sexe. Este interesant că în toate familiile studiate, cîte un singur individ prezenta manifestări clinice. De aceea, se consideră că tara are o expresivitate clinică foarte slabă (13). Schematic, tabloul biochimic este destul de particular pentru a-l diferenția de PAI și PV: creștere exprimată a eliminării urinare și intestinale de coproporfirine, pe lîngă creșterea moderată a conținutului urinar de ALA, PBG și uroporfirine, și eliminare normală de protoporfirine. Această ecuație biochimică nu se prezintă însă totdeauna cu aceeași claritate. Se acceptă, totuși, că o eliminare intestinală mult crescută de coproporfirine reprezintă elementul cel mai util pentru diagnostic (30). Cînd excreția ALA este crescută, pe lîngă coproporfirinurie, poate veni în discuție un saturnism. Diferențierea însă e ușurată, deoarece în saturnism nu cresc eliminările intestinale de porfirine, în schimb cresc protoporfirinele eritrocitare. În cursul coproporfiriei ereditare, conținutul de protoporfirină în hematii este normal (40).

Apartenența bolii la tipul hepatic este evidentă. S-a semnalat fluorescență roșie în ficat (și lipsa acesteia în măduva osoasă), nivelul normal al porfirinelor libere din globulele roșii (spre deosebire de porfiriile eritrohepatice) și efectul agravant al barbituricelor, fenomen care se întîlnește numai în porfiriile hepatice (30).

Studiile recente au precizat existența unui bloc în metabolismul coproporfirinogenului III, indusă de o alterare a activității coprogendecarboxilazei. Creșterea activității ALA-S hepatice pare să fie secundară defectului coprogendecarboxilazei (Copro-D), care condiționează o reducere a inhibitorului fiziologic al primei verigi a porfirinogenezei (17).

Porfiria cutanată tardivă (PCT)

Porfiria cutanată tardivă este aspectul cel mai controversat și cel mai complex din cadrul porfiriilor hepatice (21). Conturul clinic este clar și bine delimitat, dar etiologia și patogeneza sînt încă viu discutate. Diagnosticul de PCT se stabilește la bolnavii care prezintă numai leziuni cutanate caracteristice (fără nici o altă manifestare abdominală sau nervoasă) (16). În schimb, este însoțită de obicei de o tulburare funcțională hepatică, motiv pentru care unii preferă să o numească porfirie hepatocutanată (5).

În ciuda clarității acestei definiții clinice, PCT rămîne o entitate nozologică eterogenă. Pentru unii, ea este o boală dobîndită (2). În acest sens, se evocă apariția bolii la vîrstă adultă (în jurul vîrstei de 40–50 ani) și rolul unor factori exogeni evidenți (5). Importanța

etilismului este incontestabilă (deosebit de concludentă este mai ales remisiunea persistentă după excluderea toxicului). În Africa de Sud, unde boala a fost înregistrată la peste 10.000 din locuitorii de culoare, agentul cauzal este o băutură etanolică tradiţională cu conţinut crescut de fier, alcool izoamilic şi de metaboliţi de aspergillus fermigatus, care o contaminează, în procesul preparării. Un argument important a fost oferit de aşa-numita epidemie (peste 5 000 de observaţii) de porfirie cutanată, apărută, în zonele rurale ale Turciei, la populaţia supusă accidental la intoxicaţia cu un pesticid (hexaclorbenzen) (13). S-au înregistrat, de asemenea, observaţii consecutive administrării de hormoni sexuali (stilbestrol utilizat în cancerul de prostată sau anticoncepţionalele steroide) (16). În alte observaţii, rolul declanşator a putut fi atribuit griseofulvinei sau clorochinului (13). Este interesant că barbituricele şi sulfamidele, reputate pentru capacitatea de a induce crize de PAI, nu par să condiţioneze PCT (9, 36). O anemie importantă poate constitui, probabil, un factor declanşator frecvent (13). În prezent, se crede că PCT este totuşi o boală ereditară, în care există însă o slabă penetranţă şi deci o slabă expresie a tarei (2, 32). De fapt, etilismul incriminat ca agent cauzator este prea frecvent pentru a putea explica singur etiologia unei boli atît de rare ca PCT (în Suedia, Waldenström o descoperă la 1% din etilici; în Australia, Mac Gorwin o găseşte în 1‰) (32).

Aceleaşi obiecţii se aduc hormonilor steroizi (Perott şi Thivolet notează patru cazuri de PCT într-un lot de 1500 indivizi trataţi cu estrogeni pentru cancer de prostată). Este demn de menţionat că epidemia turcă s-a aglomerat în anumite familii. Agregarea familială devine o noţiune clasică. Astfel, într-un studiu statistic mondial, s-au grupat 17 familii cu 48 de membrii bolnavi de PCT. S-a notat, de asemenea, apariţia bolii la gemeni homozigoţi (2, 9, 32).

Boala apare mai frecvent la bărbaţi, mai ales după 40 de ani. Tabloul clinic este caracterizat printr-un ansamblu de fenomene cutanate care realizează, prin asocierea lor, un aspect caracteristic: pigmentaţie brună, bule, macule atrofice şi microchiste, localizate pe suprafeţele expuse la lumină (fig. 11—13) (5, 6, 18, 22). Bulele, elementul cel mai caracteristic, sînt precedate de prurit şi apar în grupe de 6—10 elemente. Dimensiunile sînt variate de la 3—30 mm, cu conţinut clar, tulbure sau serohemoragic. După o evoluţie de cîteva zile, bulele se rup, lăsînd loc unei eroziuni cu fond granitat şi sîngerînd, care se acoperă cu o crustă rotundă brună (18). După o perioadă de cîteva zile, crusta cade, lăsînd o maculă roză pigmentată brun-violaceu sau vitiliginoasă, ceea ce determină, după o perioadă, un aspect mozaicat al tegumentelor, mai ales pe dosul mîinii (fig. 11—13).

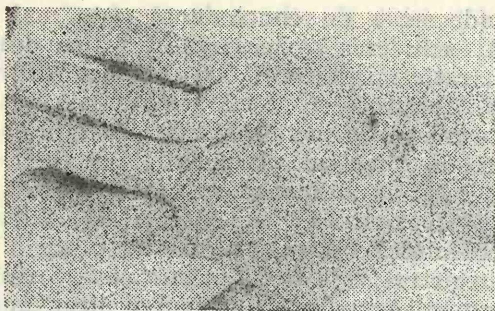


Fig. 11—13. Tabloul pestriţ al leziunilor din porfiria cutanată tardivă cu eroziuni, macule atrofice, microchiste pe un fond de hiperpigmentaţie.

Microchistele, de mărimea şi aspectul unui bob de mei, sînt localizate în vecinătatea articulaţiilor interfalangiene sau pe faţă (5). La acestea se adaugă o hipertrichoză periorbitară, în ramă de ochelari, care dă feţei un aspect simian (22). Se notează epidermofragilitatea generalizată, cu detaşarea epidermului la cele mai mici traumatisme (16). Fenomenele clinice cutanate sînt expresia efectului fotosensibilizant al porfirinelor. Se presupune că porfirinele absorb lumina, înmagazinînd energie, care este eliberată în momentul în care porfirinele revin la starea iniţială. Această energie eliberată ar condiţiona leziunile dermice prin formarea unor radicali liberi, care lezează membranele prin peroxidarea lipidelor lizozomale. Această formulare ar sugera un mecanism comun pentru toate porfiriile. Aspectele cutanate diferite, caracterizate numai prin urticarie solară în protoporfirie, faţă de tabloul cutanat complex, din celelalte porfirii cu manifestări cutanate, s-ar explica prin faptul că protoporfirinele sînt mai puţin solubile în apă decît restul porfirinelor, ceea ce ar reduce efectul lor local.

Manifestările cutanate sînt asociate unor leziuni hepatice, condiţionate de etilism sau alte noxe hepatotrope, ceea ce justifică termenul de „porfirie hepatocutanată" (5, 6, 34). Puncţiile hepatice arată totdeauna tulburări morfologice variate, de la aspectul hepatitei cronice stabilizate pînă la acela de ciroză. La o parte din bolnavi, se constată o hemosideroză şi leziuni pancreatice (23, 24). Întrucît bolnavii cu hemocromatoză primară (vezi pag. 99) nu dezvoltă porfirie, acumulările de fier în ficatul bolnavilor cu PCT pare a fi doar o consecinţă a perturbării metabolismului porfirinelor (10). Există însă şi indicii că fierul în exces ar produce, în anumite condiţii, o inhibare a unor enzime implicate în metabolismul porfirinelor (7, 14).

Anomaliile metabolismului porfirinic constituie un tablou biochimic caracteristic, reprezentat prin creşterea uroporfirinelor urinare pînă la valori de cîteva mg/zi, asociată cu o coproporfirinurie sub 1 mg/zi, pe lîngă o cantitate urinară normală de ALA şi PBG. Uroporfirina este un amestec de izomeri I şi III, uneori cu predominanţa izomerului I (13, 16). Acumularea porfirinelor în ţesutul

Tabelul 11–5

Principalele caractere ale porfiriilor

Caracter	Eritropoietice	Eritrohepatice		Hepatice							
	Günther	Proto-	Copro-	PAI		P. variegata		Copro. eredit.		PCT	
Ereditar	Recesiv	Dom.	Dom.	Dominant		Dominant		Dominant		?	
Dobîndit	–	–	–	–		–		–		+++	
Agenți declanșatori	Lumină	Lum.	Lum.	Barbiturice		Barbiturice		Barbiturice		Alcool, Lumină	
Vîrsta apariției(ani)	0–5	0–5	0–5	10–40 *30*		10–40 *30*		10–40 *30*		Peste 40	
Sex	M+F	M + F	M + F	m + F		m + F		m + F		M + (f?)	
Defect enzimatic	Uro-III Co–S	Ferokelat.	?	Uro-IS		Protooxidază		Copro-D		Uro-D	
Fază				Latent	Acut	Latent	Acut	Latent	Acut	Latent	Acut
Manifestări cutanate a) urticarie	–	+++	++	–	–	–	–	–	–	–	–
b) bule	++++	–	–	–	–	+	+++	+	+++	+	+++
Manifestări neuro-abdominale	–	–	–	–	+++	–	+++	–	+++	–	–

Tabelul 11–6

Principalele modificări biochimice din porfirii

Caracter	Eritropoietice	Eritrohepatice		Hepatice							
	Günther	Proto-	Copro-	PAI		P. variegata		Copro. eredit.		PCT	
Faza				Latent	Acut	Latent	Acut	Latent	Acut	Latent	Acut
Eritrocite Fluorescență	+++	+++	+++								
Uroporf.	I. ++										
Copro	I. +		+++								
Protoporf (9)		+++									
URINA Culoare	roșie				roșie		roșie		roșie		roșie
ALA					+++		++		++		
PBG					+++		++		++		
Uroporf.	I. +++			+	++	+	++	+	++	+	++++
Coproporf.	I. +++			+	++	+	+++	++	++++	++	++++
P7, P6, P5										+	++++
SCAUN Uro	I. +++									++	+++
Copro	I. +++		+++			+	+++	+	+++	+	+++
Proto		+++				+++	++++				
Izomeri Elder										+	+++

hepatic este cauza fluorescenței roșii în lumina ultravioletă, ceea ce justifică încadrarea sa în grupul porfiriilor hepatice. Recent s-a semnalat excreția și acumularea hepatică masivă de porfirine heptacarboxilice care, după Doss (9), ar avea o valoare patognomonică pentru porfiria cutanată tardivă. De fapt, în cantități absolute, izomerul III al porfirinei heptacarboxilice depășește totdeauna izomerul III al uroporfirinei. Uneori, se găsește o predominanță a derivatului pentacarboxilic. După Doss (9), substratul biochimic este reprezentat de un deficit al uroporfirinogendecarboxilazei, care s-ar situa între uroporfirinogen și varietățile heptacarboxilice, pentru izomerii I, și între porfirinele hepta și hexacarboxilice, pentru izomerii III.

Recent, Elder a izolat, din materiile fecale ale bolnavilor cu PCT, trei noi varietăți de coproporfirine: izocoproporfirină, dietilizocoproporfirină și hidroxiizoporfirină, care ar fi de asemenea consecința deficitului în uroporfirinogen decarboxilază (16). Acești așa-ziși izomeri Elder ar fi patognomonici pentru PCT. Totodată s-a descoperit o creștere constantă și importantă a concentrației citocromului P_{450} în ficat. Formarea sa accelerată ar indica o stimulare a sintezei și utilizării hemului în cursul PCT (2).

Porfiriile experimentale

Administrarea unor substanțe la animalele de experiență poate produce alterări caracteristice ale metabolismului profirinelor care, deși nu se însoțesc de manifestările clinice din patologia umană, au o deosebită importanță pentru descifrarea mecanismelor porfirinogenezei. Așa, de exemplu, *sedormidul* (alilizopropilacetilcarbamid) și *alilizopropilacetamida* (*AIA*) produc, la iepure, o eliminare crescută de ALA, PBG și uroporfirine, similară cu cea întîlnită în porfiria acută intermitentă (PAI).

Dietildihidrocolidina (*DDC*) realizează, la șoareci, o eliminare de porfirine urinare și fecale analoagă celei din porfiria variegata (vezi pag. 247).

Hexaclorbenzenul (*HCB*), administrat șoarecilor, cobailor și iepurilor, produce eliminări crescute de uroporfirine, porfirine heptacarboxilice și izomeri Elder, realizînd un aspect similar celui din PCT, iar anomaliile amintite sînt accentuate prin administrarea de fier.

Griseofulvina reproduce, la șobolani, aspecte biochimice similare celor din protoporfiria eritrohepatică umană (vezi pag. 238).

Toate aceste substanțe porfirinogene pot străbate cu ușurință membranele celulare și se pare că au proprietatea comună de a accelera procesele de consum și reînnoire a hemoproteinelor hepatice (mai ales citocrom P_{450}). Se ajunge astfel la un deficit relativ de hem liber, cu rol în inhibarea retrogradă a sintezei de porfirine și, drept urmare, se activează enzima cheie, respectiv ALA-S (vezi fig. 11–8, pag. 229). Activarea acestei

enzime de către diferitele toxice porfirinogene este însă variabilă şi este mult potenţată de substanţe cu efect inductor, aşa cum sînt barbituricele.

Este însă important de precizat că porfirinogeneza patologică nu este doar consecinţa creşterii activităţii ALA-S. În realitate, tabloul clinic şi cel biochimic se dezvoltă numai atunci cînd, pe lîngă creşterea ALA-S, are loc şi un bloc, prin defect enzimatic, a diferitelor etape succesive ce intervin în sinteza hemului. Este semnificativ faptul că, în porfiria experimentală prin HCB s-a identificat şi un defect enzimatic al uroporfirinogendecarboxilazei, întocmai ca şi în PCT.

Profilaxie

Fiind vorba de boli ereditare, măsurile profilactice se adresează rudelor bolnavilor cu porfirie, cărora li se recomandă evitarea toxicelor (alcool, medicamente porfirogene) şi a expunerii exagerate la soare (fig. 11—14). Este util de ştiut că susceptibilităţii unui individ îi corespunde o susceptibilitate similară la toţi membrii familiei afectaţi de alterarea enzimatică. Posibilităţile actuale de depistare enzimatică a tarei latente permite identificarea indivizilor la care măsurile profilactice sînt indicate.

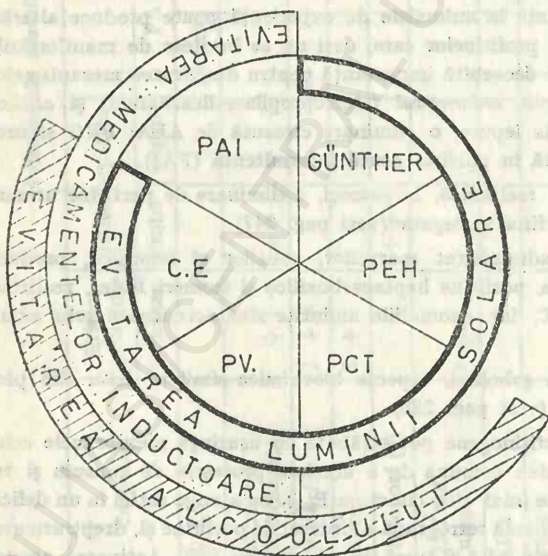


Fig. 11—14. În profilaxia exacerbărilor au o importanţă deosebită măsurile de protecţie faţă de anumiţi factori cu rol declanşant (expunerea la lumina solară, medicamentele inductoare de ALA—S, alcoolul). Indicaţia trebuie făcută însă diferenţiat în funcţie de forma clinică (aşa cum rezultă din figură).
GÜNTHER = Porfiria eritropoietică; PEH = Protoporfiria eritrohepatică; PCT = Porfiria cutanată tardivă; PV = Porfiria variegata; CE = Coproporfiria ereditară; PAI = Porfiria acută intermitentă.

Tratament

Măsurile de ordin general se referă la evitarea medicamentelor cu potențial declanșator (barbiturice, sulfamide, antipaludice, piramidon), interzicerea alcoolului și evitarea expunerii la soare prin protecție vestimentară (13, 21, 35).

Măsurile terapeutice cu caracter patogenetic au fost inițiate ca urmare a documentării rolului carenței de purine în determinismul porfirinogenezei patologice. În acest sens, se utilizează tratamentele bazate pe oferta crescută de derivați purinici: acid adenozin-5-monofosforic (Adenyl) A.T.P. (Fosfobion) sau inozină (2, 9, 11, 13, 36).

Rezultate bune se obțin cu ajutorul acidului aspartic (Aspatofort), în doză de 2 fiole/zi (11, 12, 21, 26). Aspatofortul permite remisiuni îndelungate chiar și la bolnavii la care alte tratamente cu derivați purinici înregistrează doar succese parțiale. Manifestările cutanate sînt influențate rapid. Cel mai evident efect este depigmentarea, vizibilă deja din primele zile. Concomitent se produce cicatrizarea leziunilor preexistente și nu mai apar leziuni noi (11). Uro- și coproporfirinuria se reduc pentru ca, în ziua a 10—11-a, să se stabilizeze în apropierea limitelor fiziologice. La bolnavii cu manifestări paroxistice are loc dispariția fenomenelor abdominale și a porfobilinogenuriei (12). Influențarea manifestărilor clinice este similară, indiferent de gradul alterării hepatice sau de nivelul sideremiei, ceea ce demonstrează că acidul aspartic intervine direct și specific în metabolismul porfirinelor (21). Efectul favorabil, obținut în variate forme de porfirie hepatică, cu alterări biochimice particulare și specifice diferitelor forme, pledează pentru caracterul multilateral și complex al acestei intervenții (26).

Acidul aspartic contribuie la ameliorarea sintezei purinelor, ceea ce asigură utilizarea rațională a acidului succinic. De asemenea, el acționează asupra enzimelor oxidative, care pot realiza inhibiția fumaratreductazei exagerate patologic. Mecanismul este completat prin influențarea ATP, inhibitor fiziologic al porfirinogenezei, și prin favorizarea multiplelor funcții mitocondriale hepatocelulare (12, 21). Deoarece porfiria experimentală cu azatioprină (imuran) se caracterizează, pe lîngă coproporfirinurie exagerată, și prin uroporfirinurie semnificativă, influențarea netă prin administrare de acid aspartic sugerează și o acțiune protectoare asupra urogendecarboxilazei (19). fig. 11—15.

În afara acestor măsuri patogenice generale se propun și măsuri speciale pentru unele forme particulare (fig. 11—16).

În PCT, în ideea reducerii fotosensibilizării, s-a propus tratamentul cu clorochin, util în alte fotodermatoze (16, 32). Eficacitatea sa este însă controversată. S-a propus,

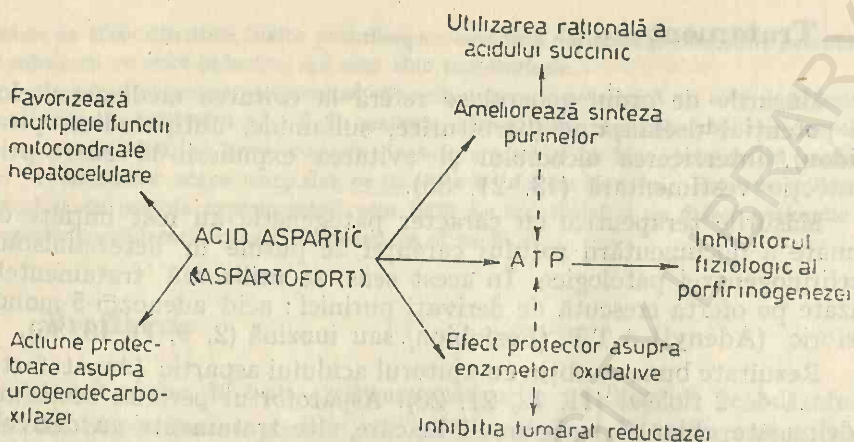


Fig. 11—15. Mecanismele intervenţiei acidului aspartic în metabolismul porfirinelor.

de asemenea, alcalinizarea urinii prin administrare de bicarbonat de natriu. Tratamentul se bazează pe dependenţa excreţiei renale de porfirine în funcţie de pH-ul urinar. Administrarea unei doze zilnice de 4—6 g determină, după o perioadă de creştere a excreţiei urinare de coproporfirine, o scădere a uro- şi coproporfirinuriei şi

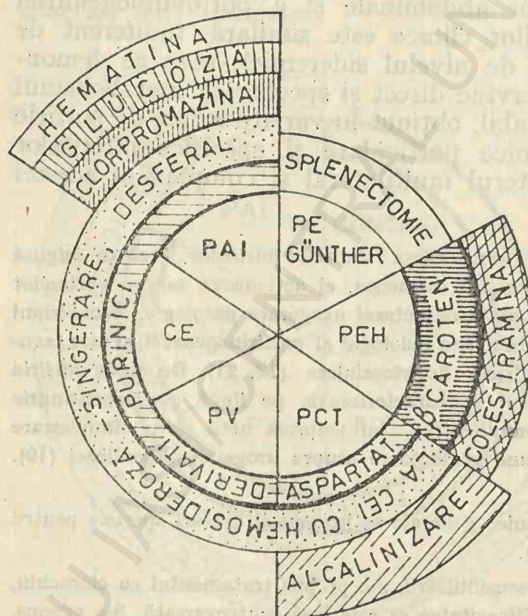


Fig. 11—16. Tratamentul porfiriilor include numeroase măsuri cu caracter patogenic. Ele trebuie aplicate diferenţiat în diferitele forme clinice în funcţie de mecanismul patogenic pe care îl interferează.
PE (GÜNTHER) = Porfiria eritropoietică; PEH = Protoporfiria eritrohepatică; PCT = Porfiria cutanată tardivă; PV = Porfiria variegata; CE = Coproporfiria ereditară; PAI = Porfiria acută interm itentă.

o ameliorare a manifestărilor cutanate (16, 35, 36). Rolul important pe care îl ocupă hemosideroza în PCT a justificat încercările terapeutice adresate reducerii sideremiei: administrarea de desferoxiamină (Desferal) şi mai ales sîngerările repetate, preconizate de Ipen (500 ml/săptămînă, în prima lună, apoi 250 ml, tot la două săptămîni, în lunile următoare) (3, 9, 10, 27). Rezultatele sînt bune, cu normalizarea porfirinuriei şi dispariţia manifestărilor clinice. Se pare că cea mai raţională atitudine este aceea a terapiei selective. La bolnavii cu sideremie normală este suficientă administrarea de derivaţi purinici (17) şi mai ales Aspatofort (12, 26). În prezenţa unei hipersideremii se impune un tratament combinat cu asocierea sîngerărilor, pe lîngă tratamentul metabolic (26).

În PAI fenomenele abdominale se influenţează cu clorpromazină (Clordelazin), deşi nu s-a putut documenta o interferare cu procesele metabolice fundamentale. În prezenţa unor dureri deosebit de accentuate se poate utiliza Mperidol (Demerol) sau tetraetilamina. Eventual se poate asocia cloralhidratul. Constipaţia severă beneficiază de neostigmină. Antialgicele şi anticolinergicele nu sînt numai inutile ci chiar dăunătoare.

Episoadele acute cer o supraveghere atentă. Riscul insuficienţei respiratorii, fiind permanent, impune uneori măsuri de respiraţie asistată în plămînul de oţel (3). Hiponatremia şi hipocloremia, secundare secreţiei de hormon antidiuretic, reclamă o terapie adecvată. De aceea este necesară aprecierea corectă, permanentă, a balanţei hidroelectrolitice, a volumului sanguin şi a concentraţiei urinare de sodiu (2, 9, 36, 37). Tulburările electrolitice pot determina o azotemie extrarenală, care necesită de asemenea o corectare rapidă (3).

S-a subliniat importanţa administrării de glucoză, cu efect inhibitor asupra ALA-S, în cursul crizelor paroxistice de PAI. Se pare însă că, pentru realizarea „efectului de glucoză", sînt necesare cantităţi mari (500 g glucoză pe zi) (35, 36). Oricum, aportul glucidic crescut este util şi este bine să fie instituit la toţi bolnavii.

Mai recent, Bonkowsky şi Watson (3, 4) au reuşit să oprească crize severe de PAI prin perfuzii cu hematină. Metoda este justificată teoretic deoarece hemul inhibă, prin mecanism de feedback, ALA-S. (La una din observaţiile tratate a apărut o insuficienţă renală trecătoare, evident consecinţa perfuziei cu hematină. Se consideră însă că succesul obţinut, în forme cu insuficienţă respiratorie, justifică utilizarea acestei metode indiferent de riscul renal).

Pentru manifestările cutanate se pot folosi emulsii antiactinice cu PAS 5%, acid paraaminobenzoic 15%, antipirină 5% sau dihidroxiacetonă (17). La bolnavii cu protoporfirie eritrohepatică s-a dovedit deosebit de util tratamentul cu betacaroten (7, 43). Rezultatele favorabile se înregistrează în 80% din cazuri, ameliorarea toleranţei solare fiind în funcţie de nivelul carotenului circulant (peste 400 gama/100 ml care necesită o doză zilnică de 50—150 mg). Nu s-au semnalat fenomene de hipervitaminoză A. Mecanismul este ipotetic. Nu influenţează nivelul protoporfirinei eritrocitare, dar se pare că acţionează la nivelul reacţiei fototoxice, reducînd oxigenul liber şi formarea radicalilor peroxizi. În ce priveşte suferinţa hepatică, din protoporfiria eritrohepatică, s-a remarcat că utilizarea colestiraminei ar fixa protoporfirinele şi ar întrerupe circuaţia lor enterohepatică, cu efect preventiv pentru dezvoltarea cirozei (42).

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. ADLER, A. D. (ed), *The chemical and physical Behaviour of porphyrin compounds and related structure*, Ann. N. Y. Acad. Sci., 1973, 206, 1–592.
2. ADLER, A. D. (ed), *The Biological Role of Porphyrines and Related structures*, Ann. N. Y. Acad. Sci., 1975, 244, 1–694.
3. BLOOMER, J. R., *The hepatic porphyrins*, Gastroenterology, 1976, 71, 689.
4. BONKOWSKY, H. L., BLOOMER, R. J., EBERT, P. S., MAHONEY, M. J., *Meme synthetase deficiency in human protoporphyria*, J. Clin. Invest., 1975, 56, 1139.
5. CONDACSE, A., RĂDULESCU, I. C., CAROLI, T., *Porfiriile, Biochimie clinică*, Ed. med., Bucureşti, 1970.
6. CĂPUŞAN, I., BOCIAT, T., VERESS, V, POP, V., POP, O., *Leziuni sclerovitiliginoase şi sclerapapuloase în porfiria cutanată tardivă.*, Dermato-Venerologia, 1963, 7, 417.

6a. CĂPUŞAN, I., STERN, A. *Porfiria cutanată tardivă ca boală profesională*, Dermato-Venerologia, 1966, 5, 413.

7. DELEO, V., POH-FITZPATRICK, M., MATHEWS-ROTH, M., HARBER, L. C., *Erythropoietic Proporphyria*, Am. J. Med., 1976, 60, 8.
8. DEMATTEIS, F., STONARD, M., *Experimental Porphyrias as Models for Human Hepatic Porphyrias*, Seminar in Hematology, 1977, 2, 187.
9. DOSS, M. F. (ed), *Porphyrins in Human Diseases. First International Porphyrin Meeting*, Freiburg, Falk, 1976.
10. FELSHER, B. F., KUSHNER, S. P., *Hepatic Siderosis and Porphyria Cutanea Tarda*, Seminars in Hematology, 1977, 2, 243.
11. FODOR, O., GOIA, A., NICOARĂ, A., *Tratamentul cu asparagină în porfiria cutanată tardivă*, USSM Cluj, 1970, VI, 11.
12. FODOR, O., GOIA, A., NICOARĂ, A., *La terapia con asparagina nelle porfirie epatiche*, La Clinica Terapeutica, 1972, 2, 105.
13. GAJDOS, A., GAJDOS-TÖRÖK, M., *Porphyrines et Porphyries, Biochimie et Clinique*, Masson, Paris, 1969.
14. GAJDOS, A., *La nature enzymopathique des porphyries*, Now. Presse Med., 1976, 5, 1417.
15. GAJDOS, A., *Porphyries expérimentales*, Rev. de Med., 1977, 21–22, 1041.
16. GAJDOS, A., *Porphyrie cutanée tardive*, Rev. de Med., 1977, 21–22, 1037.

17. GIDARI, A. S., LEVERE, R. D., *Enzymatic Formation and Cellular Regulation of Heme Synthesis.*, Seminars in Hematology, 1977, 2, 145.

18. GOIA, A., *Porfirinopatiile*, Teză de diplomă. I.M.F. Cluj, 1959.

19. GOIA, A., NICOARĂ, A., GOIA, E., *Uroporfirinurie experimentală prin imuran*, ISPCM Cluj, 1972, I, 26.

20. GOIA, A., NICOARĂ, A., SZANTO, P., *Aspecte imunochimice în porfiriile hepatice*, ISPCM Cluj, 1975, XI. 15.

21. GOIA, A., NICOARĂ, A., *Tratamentul Porfiriilor*, Med. Int., 1976, 2.

22. GOIA, A., GOIA, E., *Actualităţi în problematica porfiriilor*, USSM, Gastroenterologie, 1977, 24, IV.

23. GOIA, A., NICOARĂ, A., BICOI, C., SZANTO, P., *Alterări metabolice asociate în porfiriile hepatice*, USSM, Gastroenterologie, Cluj, 1977, IV. 20.

24. GOIA, A., LUCACIU, D., SZANTAY, I., *Proba cu trioleina marcată în porfiriile hepatice*, USSM Gastroenterologie, Cluj, 1977, IV. 20.

25. GOIA, A., STANCIU, E., POP, I., *Valoarea probei cu fenobarbital în diagnosticul porfiriei acute intermitente*, USSM, Gastroenterologie, Cluj, 1977, IV. 20.

26. GOIA, A., NICOARĂ, A., GOIA, E., *Aspatofortul în porfiriile hepatice, rezultate imediate și tardive*, USSM, Gastroenterologie, Cluj, 1977, IV. 20.

27. GRANICK, S., SINCLAIR, P., SASSA, S., *Effects by heme, insulin and serum albumin on heme and protein synthesis.*, J. Biol. Chem., 1975, 250, 9215.

28. GRELIER, M., NORDMANN, V., *Porphyrie erythropoïétique congenitale*, Rev. Med., 1977, 21—22, 1021.

29. JACKSON, A. M., *Modern Spectroscopic and chromatographic Techniques for the Analysis of porphyrin on a microsrole*, Seminars in Hematology, 1977, 2, 193.

30. KAUFMAN, L., MARVER, H. S., *Biochemical defects in two types of human hepatic porphyria*, N. Engl. J. Med., 1970, 283, 954.

31. KLATZKIN, G., BLOOMER J. R., *Birefringence of hepatic pigment deposits in erythropoietic protoporphyria*, Gastroent., 1974, 67, 294.

32. KOSKELO, P., TEUHUNEN, R. (eds)., *International Conference of Porphyrin Metabolism*, Ann. Clin. Res., 1976, suppl. 17, 1—262.

33. KOSKELO, P., MULLER EBERHARD, V., *Interaction of Porphyrias with Proteins*, Seminars in Hematology, 1977, 2, 221.

34. LUCACIU-CĂPUȘAN, D., *Participarea hepatică în porfiria cutanată tardivă*, Teză de diplomă, I.M.F. Cluj-Napoca, 1976.

35. MARVER, M. S., SCHMID, R., *The porphyrias*, în Stanbury, J. B., Wyngaarden, J. B., Fredrickson, D. S. (eds.), *The metabolic Basis of Inherited Disease*, Mc Graw-Hill, New York, 1972, 1087.

36. MÖRL, M., HANENSTEIN, K. M., *Klinische, Humorale und Histologische Befunde bei hepatischen Porphyrien*, Münch. med. Wschr., 1977, 45, 1457.

37. MUSTAJOKI, P., KOSELKO, P., *Hereditary Hepatic Porphyrias in Finland*, Acta Med. Scand, 1976, 200, 171.

38. NICHOLSON, D. C., COWGER, M. L., KOLIVAS, I., THOMPSON, R. P. M. GRAY, C. M., *Isotopic Studies of the erythropoietic and hepatic components o, congenital porphyria and erythropoietic protoporphyria,* Clin. Sc., 1973, 44, 135.
39. NORDMAN, Y., VERNEUIL de M., *Porphyrie aigue intermittente-coproporphyrie-Porphyrie-variegata,* Rev. de Med., 1977, 20, 990.
40. NORDMAN, Y., NHU PHUNG., *Diagnostic biologique des porphyrines,* Rev. de med., 1977, 20, 979.
41. PERROT, H., THIVOLET, S., BOUCHERD, M., GERVEZ, F., *La Porphyrie variegata,* Lyon Medical, 1976, 11, 905.
42. PERROT, M., *La protoporphyrie erytropoietique,* Rev. de Med., 1977, 21–22, 1028.
43. POH-FRITZPATRICK, M., *Erythropoietic Prophyrias,* Seminars in Hematology, 1977, 2, 211.
44. QUILICHINI, R., CHAFFANSON, P., LE BOT, M., *Paralysis Diaphragmatique bilatérale isolée et porphyrie aigue intermittente,* Sem. Hôp. Paris, 1977, 11, 700.
45. REYNOLDS, N. C., *Porphyrias: Neurologic Aspects and the treatment of Exacerbations,* Minnesota Med., 1977, 60, 515.
46. ȚÎRLEA, I., CĂPUȘAN, I., *Corelații hepatocutanate în porfiria hepatocutanată cronică,* Rev. Med. Chir., 1968, 1, 23.
47. SCHWARTZ, S., JOHNSON, J. A., STEPHENSON, B. O. and colab., *Erytropoietic defects in porphyria,* Lab. Clin. Med., 1971, 78, 411.
48. WEDER, B., KETZ, E., *Polyneuropathie und epileptische zufälle bei einer tippe mit akuter intermittierender Porphyrine,* Schweitz. med. Wschr,. 1977, 45, 1620.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Care din porfirinele de mai jos nu se produc în natură ca urmare a proceselor metabolice:
   A. Uroporfirina III
   B. Coproporfirina I
   C. Protoporfirina 9 (III)
   D. Deuteroporfirina
   E. Mezoporfirina
   F. Hematoporfirina

2. Stabiliţi corespondenţa între porfirinele de mai jos şi numărul de grupări carboxil pe care le conţin:

A. Uroporfirina	I. 8 grupări carboxilice
B. Coproporfirina	II. 2 grupări carboxilice
C. Protoporfirina	III. 4 grupări carboxilice

3. Care din porfirinele de mai jos *nu* reprezintă un produs de deşeu metabolic şi intervine activ în lanţul metabolic care duce la sinteza hemului:
   A. Uroporfirina I
   B. Coproporfirina III
   C. Protoporfirina 9 (III)

4. Stabiliţi corespondenţa între enzimele de mai jos şi procesul metabolic pe care îl catalizează:

A. δ-aminolevulinic sintetaza (ALA-S)	I. Formare de acid δ-aminolevulinic din glicocol şi succinil-CoA.
B. δ-aminolevulinic dehidraza (ALA-D)	II. Formarea porfobilinogenului
C. Ferokelataza	III. Condensarea a 4 molecule de porfobilinogen în formarea urobilinogenului.

D. Uroporfirinogen sintetaza (Uro-S) — IV. Formarea coproporfirinogenului

E. Uroporfirinogen decarboxilaza (Uro-D) — V. Formarea protoporfirinogenului

F. Coproporfirinogen decarboxilaza (Copro-D) — VI. Formarea protoporfirinei 9 (III)

G. Protoporfirinogen oxidaza (Proto-0) — VII. Incorporarea fierului în inelul porfirinic.

5. Prin intermediul căruia din sistemele enzimatice de mai jos se exercită *principalul* control al sintezei de porfirine:

A. δ-aminolevulinic sintetaza (ALA-S)
B. Ferokelatază
C. δ-aminolevulinic dehidrază (ALA-D)
D. Uroporfirinogen sintetaza. (Uro-S)

6. Indicaţi care este principalul mecanism prin care hemul (produsul final al biosintezei porfirinelor) exercită un efect de control asupra porfirinogenezei.
A. Inhibă δ-aminolevulinic sintetaza (ALA-S)
B. Diminuă sinteza de ALA-S, probabil acţionînd în calitate de corepresor
C. Inhibă ferokelataza
D. Inhibă δ-aminolevulinic dehidraza (ALA-D)

7. Stabiliţi corespondenţa între grupurile de substanţe indicate mai jos şi efectul lor asupra sintezei de porfirine:

A. Alilizopropilacetamida, griseofulvina, colidina, barbituricele, hexaclorbenzenul, etiocolanolonul, alcoolul etilic.
B. Hemina, acidul nicotinic, cofeina, teofilina, acid paraaminobenzoic

I. Stimulează sinteza de porfirine
II. Limitează sinteza de porfirine

8. Stabiliţi corespondenţa între porfirinele şi respectiv precursorul lor şi metodele de detectare rapidă a lor din urină:

A. Coproporfirină
B. Uroporfirină

I. Extracţia cu amestec de acid acetic glacial-eter etilic. Reluare în acid clorhidric 5%. Fluorescenţă în ultraviolet.
II. În prezenţa reactivului Ehrlich se produce o coloraţie roşie care rămîne în faza apoasă şi după extracţia cu butanol.

C. Porfobilinogen	III. Extracţia cu acetat de etil. Reluare în acid clorhidric 5%. Fluorescenţa în ultraviolet.

9. Care din manifestările de mai jos nu apar în porfiria eritropoietică (Günther)·

A. Apariţia fotosensibilităţii din copilărie, cu leziuni mutilante
B. Manifestări neurologice şi abdominale
C. Eritrodonţie
D. Eliminare urinară de uroporfirină tip I
E. Splenomegalie cu anemie hemolitică

10. Indicaţi care din porfiriile de mai jos dezvoltă urticarie solară, fără leziuni buloase:

A. Porfiria eritropoietică (Günther)
B. Protoporfiria eritrohepatică
C. Porfiria variegata
D. Porfiria acută intermitentă
E. Porfiria cutanată tardivă.

11. Stabiliţi corelaţia dintre tipul de porfirie şi deficitul enzimatic care îi corespunde:

A. Porfiria eritropoietică	I. Urogensintetază
B. Protoporfiria eritrohepatică	II. Urogencosintetază
C. Porfiria acută intermitentă	III. Urogendecarboxilază
D. Porfiria variegata	IV. Coprogendecarboxilază
E. Coproporfiria ereditară	V. Protogenoxidaza
F. Porfiria cutanată tardivă	VI. Ferokelataza

12. Manifestările neurologice din cursul crizelor de porfirie acută intermitentă sînt condiţionate de:

A. Hiponatremie, azotemie şi hiperamoniemie
B. Efectul demielinizant al PBG asociat cu un eventual efect toxic al criptopirolilor
C. Apariţia unor produşi neurotoxici în cursul metabolizării medicamentelor
D. Toţi aceşti factori

13. În prezenţa unor dureri abdominale paroxistice, diagnosticul de porfirie acută intermitentă se poate afirma numai dacă în urină se găsesc cantităţi crescute de:

A. Izomeri Elder
B. Uroporfirină I
C. Uroporfirină III
D. Coproporfirină III
E. ALA şi PBG

14. Indicaţi ecuaţia biochimică care permite diagnosticul de porfirie variegata:

A. Fluorescenţă eritrocitară + uroporfirinurie I + creşterea uroporfirinei I în scaun.

B. Derivaţi heptacarboxilici + ALA în urină + creşterea coproporfirinei în scaun.

C. Uroporfirine eritrocitare + coproporfirinurie + cantităţi crescute de PBG în scaun.

D. ALA + PBG + uroporfirine + coproporfirine în urină + cantităţi crescute de protoporfirină în scaun.

15. Indicaţi produşii a căror eliminare urinară este prezentă numai în porfiria cutanată tardivă:

A. ALA
B. PBG
C. Criptopiroli
D. Uroporfirina I
E. Uroporfirina III
F. Coproporfirina III
G. Derivaţi P7, P6, P5

16. O parte din bolnavii cu PCT prezintă o alterare metabolică asociată ce trebuie corectată. Fără aceasta, măsurile patogenetice (AMP, Aspatofort) sînt puţin eficace. Indicaţi această alterare:

A. Hiperglicemie
B. Hipersideremie
C. Hiperlipemie
D. Hipercolesterolemie
E. Hipoalbuminemie
F. Hiponatremie

17. Pentru durerile abdominale din PAI se administrează:

A. Barbiturice
B. Papaverină
C. Atropină
D. Clordelazin
E. Meprobamat
F. Fenilbutazonă
G. Nici unul
H. Toate

METABOLISMUL PURINIC ŞI PIRIMIDINIC. ACIDUL URIC

Substanţă organică cu o structură relativ simplă, acidul uric ocupă un loc important în patologia umană. Legăturile metabolice ale acestui acid cu bazele purinice şi cu nucleoproteinele, fac necesară şi cunoaşterea, măcar sumară, a metabolismului acestor compuşi.

Cercetările din ultimii ani au elucidat în mare măsură căile metabolice şi semnificaţia funcţională a purinelor şi pirimidinelor ducînd la o mai bună înţelegere a patogenezei unor boli cauzate de anomaliile metabolismului acestor substanţe. Tot studiile de biochimie au permis producerea unor medicamente active în combaterea hiperuricemiilor şi în prevenirea complicaţiilor morbide ale acestora.

În cele ce urmează, se va face o descriere succintă a soartei acidului uric în organism cu toate aspectele şi modificările sale. Se va porni de la mare la mic, adică de la nucleoproteine la nucleotide, cu sublinierea „mesagerului secund" 3'5' ciclic AMP, trecîndu-se apoi la sinteza, degradarea, transportul şi eliminarea purinelor şi acidului uric.

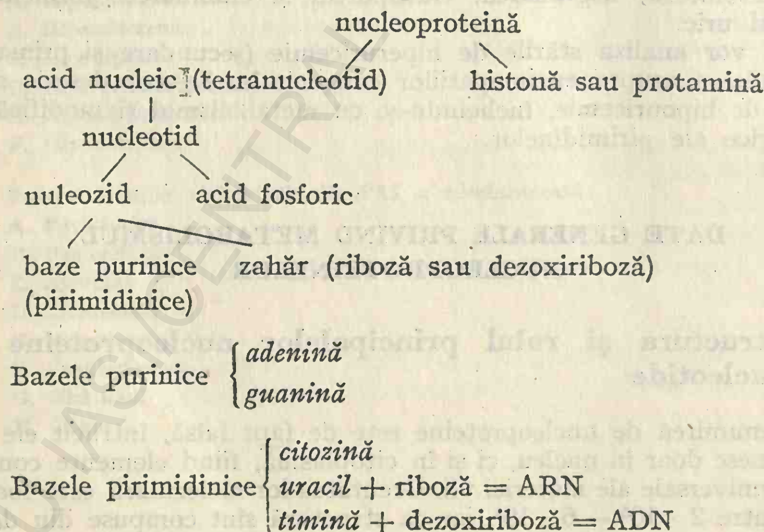
Se vor analiza stările de hiperuricemie (secundare şi primare), insistîndu-se asupra enzimopatiilor congenitale. Se vor descrie apoi stările de hipouricemie, încheindu-se cu metabolismul şi modificările patologice ale pirimidinelor.

DATE GENERALE PRIVIND METABOLISMUL NUCLEOPROTEINELOR

Structura și rolul principalelor nucleoproteine și nucleotide

Denumirea de nucleoproteine este de fapt falsă, întrucît ele nu se întîlnesc doar în nucleu, ci şi în citoplasmă, fiind elemente constitutive universale ale materiei vii. Greutatea lor moleculară este foarte mare între $2 \cdot 10^5 - 6 \cdot 10^6$, iar ca structură sînt compuse din două

elemente majore: o proteină și acizi nucleici (20). Proteinele sînt reprezentate de elemente bazice, relativ simple ca structură, de cele mai multe ori histone sau protamină. Componenta prostetică este reprezentată de acizii nucleici care sînt purtătorii efectivi ai funcțiilor nucleoproteinelor. Ca structură, acești acizi nucleici sînt compuși dintr-o serie de nucleotide, sînt deci polinucleotide. Fiecare element constitutiv, adică mononucleotid, are o compoziție caracteristică, constînd din două elemente separate: un nucleozid și o moleculă de acid fosforic. Nucleozidul, la rîndul lui, este format din alte două elemente: unul zaharat (pentoză: riboză sau dezoxiriboză) și o bază purinică sau pirimidinică. Se admite astăzi că lanțurile de acizi nucleici sînt alcătuite din fragmente de cîte patru mononucleotide, dar prin polimerizarea acestor fragmente se pot forma structuri cu greutățile moleculare mari amintite mai sus. Există două tipuri de acizi nucleici, tipuri care diferă între ele, atît în privința bazei pirimidinice din constituția lor cît și în privința pentozei (riboză sau dezoxiriboză). Denumirea este dată de acestea din urmă: acid dezoxiribonucleic (ADN sau DNA), conținînd dezoxiriboză, și respectiv acid ribonucleic (ARN sau RNA), conținînd riboză. Bazele componente sînt următoarele: adenina și guanina (purine), cu timină și citozină (pirimidine) pentru ADN; respectiv pentru ARN: adenină și guanină (ca și la ADN), dar, în loc de baza pirimidinică timină, aici este prezent uracilul (citozina existînd ca și în ADN). Schematic deci, structura nucleoproteinelor poate fi astfel reprezentată (4):



Legătura între cele patru nucleotide se face între pentoză și acidul fosforic (vezi fig. 1—6 din volumul I); întrucît una din grupările acide ale acestuia din urmă rămîne liberă, nucleotidul va avea o reacție acidă. Din cauza acestui caracter acid, nucleotidele pot forma săruri și sînt uneori denumite sub termenii de acizi nucleotidici sau nucleotidați (de exemplu acidul adenozinmonofosforic poate fi denumit și acid adenilic sau adenilat). Zahărul (pentoza) se află sub forma furanozică, ca izomer dextrogir și de formă beta.

Nucleotidelor li se atribuie o deosebită semnificație fiziologică; așa de exemplu:

Ele reprezintă sursa de energie macroergică înmagazinabilă în urma diferitelor reacții chimice; este vorba în special despre adenozintrifosfat (ATP).

Constituie coenzime ale unor importante reacții enzimatice (NAD, NADP, FAD, coenzima A) (vezi volumul I, pag. 103).

Reprezintă o verigă importantă în mecanismul de acțiune al hormonilor; este vorba în special despre 3'5' adenozinmonofosfat (vezi mai jos).

Sînt purtătorii și transmițătorii caracterelor ereditare genetice (în special ADN nuclear) (vezi volumul I, pag. 29).

Stau la baza sintezei de proteine (în special ARN citoplasmatic) (vezi volumul I, pag. 29).

3'5' adenozinmonofosfatul ciclic (cAMP)

Descoperirea acestui nucleotid a contribuit în mare măsură la înțelegerea mecanismului de acțiune al hormonilor și din acest motiv va fi descris mai amplu. Redăm mai jos structura lui conform schemei generale a nucleotidelor.

```
                     O
              1  /       \  4        5
     adenină—CH             CH—CH2
                 \ 2      3 /     |
                   C—CH           O
                 /  |     \       |  //O
               C    OH      O—P—OH

                 riboză      acid fosforic
```

Legătura de ester 3'5', respectiv existența ciclizării între C_3 și C_5, este o particularitate indispensabilă funcției lui. cAMP este însă doar un membru, este adevărat, cel mai important în siste-

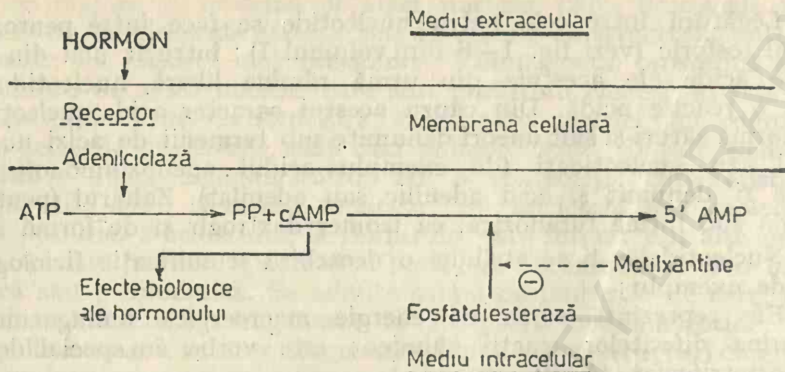


Fig. 12—1. **Sistemul adenilciclazic. Hormonul se fixează pe receptorul membranal, acesta activează adenilciclaza, care scindează precursorul (ATP) în ciclic adenozinmonofosfat (cAMP) „mesagerul secund", care declanşează diferite efecte hormonale. El este degradat în 5′ AMP de către fosfatdiesterază, inhibată de metilxantine.**

mul aşa-zis adenilciclazic. Acest sistem este localizat la nivelul regiunii submembranale a celulei (5) şi este reprezentat schematic în figura 12—1.

În această schemă sînt înfăţişaţi atît precursorii (ATP), produsul de degradare inactiv (5′AMP), precum şi enzimele şi inhibitorii lor. Ingeniozitatea lui Sutherland şi colab. (premiu Nobel) a constat în faptul că au reuşit să precizeze că cAMP, produs sub acţiunea adenilciclazei, este mediatorul unor numeroase efecte hormonale. Prin el s-a stabilit veriga între hormonii tropi hipofizari (mesageri primi) şi între hormonul secretat de organul ţintă. Din acest motiv cAMP constituie aşa-zisul „mesager secund". Pe de altă parte s-a stabilit că acest mesager secund, acţionînd intracelular, este veriga intermediară şi între unii hormoni şi acţiunile lor la nivelul celulei sau/şi enzimelor (2). Aşa, de exemplu, catecolaminele (betaadrenergice) produc creşterea cAMP şi glicogenoliză în ficat, muşchi, precum şi lipoliză în celula adipoasă. Efectul alfa adrenergic este contrar, produce scăderea cAMP, respectiv o inhibare a lipolizei adipocitare. Glucagonul acţionează tot prin cAMP asupra enzimelor care duc la degradarea glicogenului hepatic, cît şi asupra pancreasului insular, producînd glicogenoliză şi totodată hipersecreţie de insulină. Parathormonul produce, prin creşterea cAMP, mobilizarea de calciu din os şi eliminarea de fosfor prin tubul renal (vezi pag. 18). Hormonul antidiuretic acţionează de asemenea prin cAMP, producînd retroresorbţie de apă în tubul renal distal (vezi vol. I pag.

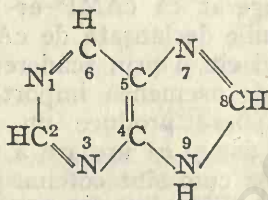
277). ACTH-ul şi TSH-ul produc secreţie de corticoizi, respectiv hormoni tiroidieni în organele ţintă (suprarenale, respectiv tiroidă), tot prin mecanismul cAMP. Se pare că insulina scade cAMP în ficat şi ţesutul adipos, opunîndu-se astfel glicogeno- respectiv lipolizei (vezi volumul I, pag. 160 şi pag. 225). Prostaglandina E ar acţiona similar la nivelul adipocitului, inhibînd lipoliza. Recent i se atribuie un rol preponderent cAMP-ului şi în producerea diareilor profuze din holeră — probabil împreună cu VIP (vasoactive intestinal polypeptide) (2). S-a sugerat că cAMP ar interveni şi în medierea răspunsului imun. Acţiunile declanşate de cAMP pot să fie date atît prin creşterea sintezei lui cît şi prin scăderea acesteia, efectele fiind în general opuse. Este de asemenea important de precizat că acumularea de cAMP se poate produce nu numai în urma creşterii activităţii adenilciclazei, dar şi ca urmare a inhibării fosfodiesterazei de către metilxantine, aşa cum sînt cofeina şi teobromina (vezi fig. 12—1). Se ridică în mod firesc întrebarea, cum este posibil ca acelaşi cAMP să declanşeze acţiuni atît de variate iar, pe de altă parte, să ia naştere sub acţiunea unei multitudini de factori hormonali. Foarte probabil că există un singur sistem adenilciclază — cAMP, dar că acţiunea hormonilor este „admisă" la acest sistem în funcţie de receptorii specifici de pe membrana celulelor din organul ţintă. Prin reducerea sau nefuncţionarea acestor receptori şi a sistemului adenilciclază-cAMP în anumite celule efectoare se poate explica lipsa de răspuns a unor organe la acţiunea hormonilor. Astfel, diabetul insipid este uneori dat nu de lipsa hormonului antidiuretic (ADH), ci de lipsa efectului acestuia asupra tubilor renali (vezi volumul I, pag. 276 şi 280). De asemenea, pseudohipoparatiroidismul este produs prin lipsa acţiunii parathormonului asupra celulelor renale, acţiune de asemenea mediată de cAMP (vezi pag. 18). Se ştie astăzi că deşi cAMP este produs prin excelenţă în celule, el poate fi eliminat şi în sînge, apoi în urină, creşterea lui la acest nivel putînd servi drept criteriu de diagnostic în anumite boli, în special endocrine (16). Aşa, de exemplu, excreţia urinară de cAMP creşte în hipertiroidism şi în hiperparatiroidism, scăzînd în insuficienţele hormonale respective. Trebuie ţinut însă cont de faptul că în insuficienţa renală, excreţia renală de cAMP poate fi scăzută. Valori crescute sanguine pot fi înregistrate şi în infarctul miocardic acut (probabil prin stress cu hipersecreţie de catecolamine) (16).

Menţionăm doar în treacăt că nu numai cAMP dar şi alte mononucleotide ciclice, cum ar fi guanozinmonofosfatul ciclic (cGMP) pot acţiona ca mediatori. Efectul acestuia este adeseori contrar cu cel al cAMP.

Purinele și acidul uric

Structură

Elementele de bază din structura nucleoproteinelor sînt constituite, pe lîngă acidul fosforic și riboză sau dezoxiriboză, de bazele purinice și pirimidinice. De fapt nucleul purinic include în molecula lui și pirimidina. Așa cum se arată mai jos este vorba despre condensarea unui nucleu pirimidinic cu unul imidazolic (11).



În funcție de adăugarea unor radicali amino sau/și hidroxi, se descriu două baze purinice în structura nucleoproteinelor: adenina, care este o 6-aminopurină, și guanina, care este o 2-amino-6-oxipurină. Evident, din cauza radicalului NH_2, ambii compuși sînt bazici. În organism se mai întîlnește și hipoxantina (6-oxipurina), precum și xantina (2,6-dioxipurina), ambele rezultînd din catabolismul adeninei, respectiv guaninei. În afară de regnul animal, unele purine se întîlnesc și în cel vegetal; ele sînt întrebuințate și ca medicamente: cofeina (1, 3, 7-trimetilxantină), teobromina (3,7-dimetilxantina) și teofilina (1,3-dimetilxantină). În sfîrșit, acidul uric, produs final al catabolismului bazelor purinice, este 2, 6, 8-trioxipurină, descoperită acum 200 de ani și a cărei structură chimică a fost elucidată de aproximativ 100 de ani.

Sursa

Purinele în organism provin din trei surse de o importanță inegală (6): catabolismul nucleoproteinelor celulare, alimente introduse în organism și sinteza („de novo") din elementele lor constitutive.

Primele două surse sînt de o importanță minoră, cea de a treia predomină net, poate cu excepția unor stări catabolice speciale cu importante distrucții celulare. Sursa alimentară merită totuși să fie menționată, întrucît reducerea ingestiei de purine reprezintă o justificare fiziopatologică a regimurilor prescrise în stările de hiperuricemie (25, 32). Cea mai bogată sursă alimentară o constituie măruntaiele: ficatul, rinichii, momițele, extractele de carne; ceva mai sărace sînt cărnurile în general. Vegetalele sînt sărace în purine, cu excepția

unor legume, ca de exemplu, spanacul şi sparanghelul. Lipidele şi alcoolul produc şi ele, indirect, creşterea purinelor şi respectiv a acidului uric.

Digestia şi absorbţia nucleoproteinelor din alimente este condiţionată de acţiunea unor nucleaze din sucul pancreatic (ribonucleaza şi dezoxiribonucleaza), care degradează acizii nucleici pînă la faza de nucleotide. Acţiunea acestor enzime este completată prin intervenţia unor polinucleotidaze din sucul intestinal, iar, sub acţiunea unor mononucleotidaze, din acelaşi suc intestinal, se scindează legătura fosforică şi rezultă nucleozidele. Acestea sînt, în cele din urmă, degradate sub acţiunea unor nucleozidaze intestinale (nucleozid fosforilaze), eliberîndu-se purinele libere, în timp ce riboza se fosforilează spre ribozo-1-fosfat.

Sinteză

Acest proces constituie cea mai importantă sursă de purine şi se face din elementele constitutive „de novo" (7). Dovada acestui fapt este observaţia după care animalele cu alimentaţie total lipsită de purine îşi pot sintetiza nucleoproteinele, ba chiar pot elimina acid uric prin urină, fără ca acesta să rezulte din catabolismul nucleoproteinelor. Baza purinică este „asamblată" din elemente constitutive foarte simple şi anume glicocolul (glicina), glutamina, acidul aspartic, bioxidul de carbon, acidul formic şi amoniacul. Fiecare din aceşti constituenţi este inclus în nucleul purinic într-o poziţie bine deter-

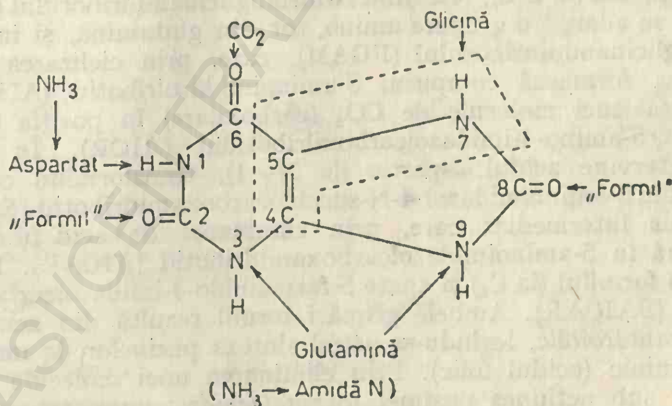


Fig. 12–2. Originea metabolică a diferiţilor atomi din nucleul purinic. Săgeţile indică locul atomului de C respectiv N din purină şi din care element constitutiv derivă. După Seegmiller (11).

minată, astfel, atomul de azot din poziţia 1, din acidul aspartic, atomii de azot din poziţiile 3 şi 9, din glutamină, iar atomul de azot din poziţia 7, din glicină. Atomii de carbon din poziţiile 4 şi 5, din glicină, carbonul din poziţia 6, din CO_2, iar carbonii din poziţiile 2 şi 8, din formiat (7).

Această asamblare nu are loc însă ca un simplu proces de adiţie, ci se face pe scheletul pentozo-fosforic. Astfel, la finele reacţiilor de sinteză nu va lua naştere purina respectivă, ci direct un nucleotid, mai precis acidul inozinic (inozina fiind o 6-hidroxipurină, care, legată de riboză şi acid fosforic, formează acidul inozinic). Iată succint etapele parcurse de aceşti precursori pînă la faza de acid inozinic. Procesul de sinteză începe de la d-ribozo-5-fosfat la care se fixează, prin reacţia catalizată de *pirofosforilază* (în prezenţa de Mg^{++}), două molecule de acid fosforic provenite din ATP. La 5-fosforibozil-l-pirofosfatul (PRPP) care rezultă se adaugă amina din glutamină, prin reacţia catalizată de *5-fosforibozil-1-pirofosfatamidotransferază* (PRPP amidotransferază), rezultînd 5-fosforibozil-l-amină şi glutamat. Această „reacţie cheie" este desosebit de importantă fiindcă reglează biosinteza purinelor („rate limiting"). Controlul reacţiei enzimatice se realizează printr-un feed-back exercitat la acest nivel de însăşi nucleotizii formaţi (vezi fig. 12—3). Următoarea etapă catalizată de *PR-glicinamidsintetază* este aceea a adăugării de glicină, rezultînd astfel glicinamidribotidul (glicinamidribozil-5-fosfat, GAR). În continuarea procesului de sinteză, sub acţiunea unei *formiltransferaze* şi în prezenţa de acid folic (FH_4), se include radicalul formil (la C 8), rezultînd N-formilglicinamidribotidul (FGAR). Din nou, se adaugă o grupare amino, tot din glutamină, şi ia naştere N-formilglicinamidinribotidul (FGAM), care, prin ciclizarea inelului imidazolic, formează compusul 5-aminoimidazolribotid (AIR). Prin adiţionarea unei molecule de CO_2 (carboxilare) în poziţia C—6, se formează 5-amino-4-imidazolcarboxilribotidul (AICR). În această etapă, intervine acidul aspartic (la N—1), transformînd compusul precedent în 5-aminoimidazol-4-N-succinocarboxamidribotid (SAICAR) un produs intermediar care, prin eliminarea de acid fumaric, se transformă în 5-aminoimidazolcarboxamidribotid (AICAR). Din nou se adaugă formilul (la C_2) şi apare 5-formamido-4-imidazolcarboxamidribotidul (FAICAR). Ambele grupări formil rezultă din acidul N_{10}-formiltetrahidrofolic, legîndu-se astfel sinteza purinelor de metabolismul vitaminic (acidul folic). Prin eliminarea unei molecule de apă, FAICAR, sub acţiunea enzimei *inozinatdehidrogenaza*, trece în acid inozinic. Această substanţă nucleotidică este punctul central al metabolismului purinic, loc de trecere obligatorie a tuturor derivaţilor purinici în procesul de interconversiune (vezi pag. 277 şi fig. 12—3).

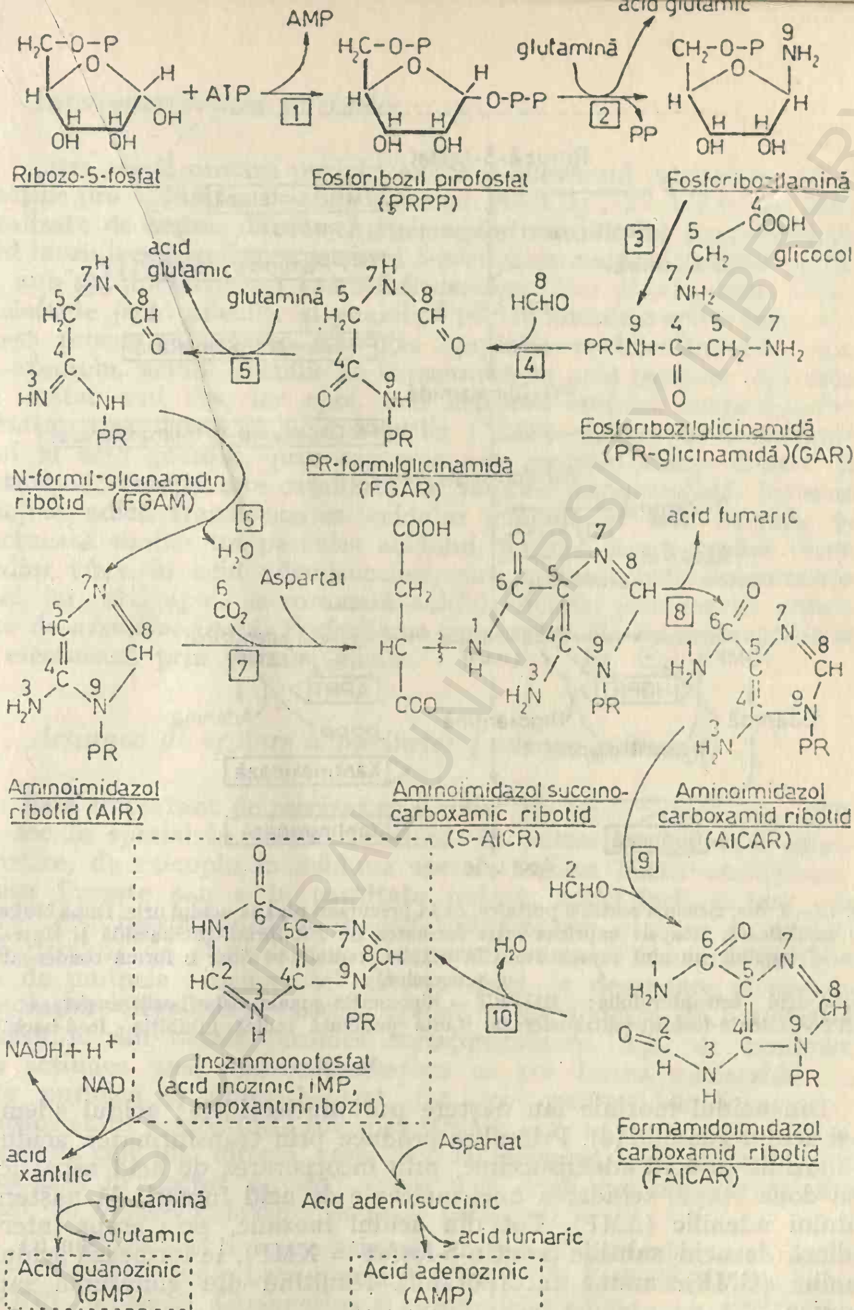


Fig. 12—3. **Biosinteza purinelor. Enzimele implicate în diversele etape sînt indicate în text la pag. 274 De la etapa a 3-a gruparea fosforibozil este reprezentată prescurtat ca PR; numerele cu care sînt indicaţi atomii de carbon şi azot arată poziţia pe care o vor ocupa aceşti atomi în nucleul purinic. Etapa a 7-a condensează atît adiţionarea de CO_2 şi formarea de AICR cît şi cuplarea cu aspartatul şi formarea de SAICAR.**

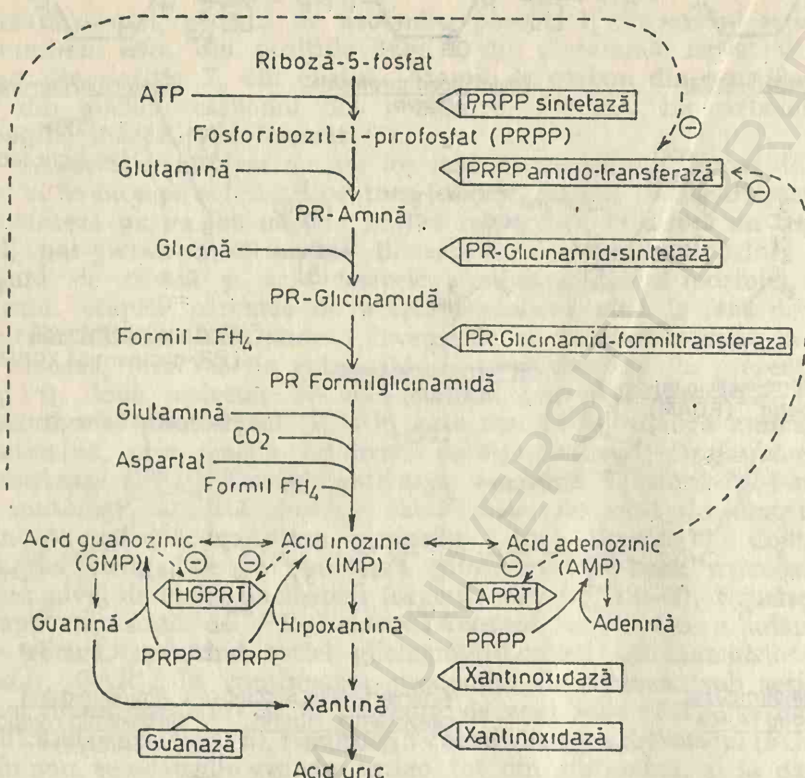


Fig. 12—3. bis. Schema sintezei purinice, de la precursori pînă la acidul uric. După Müller (10) modificată. Etapele cuprinse între formarea de PR formil-glicinamidă şi sinteza de acid inozinic nu sînt reprezentate în detaliu, redîndu-se doar o formă condensată a proceselor.
FH_4 = acid tetrahidrofolic; HGPRT = hipoxantin-guanin-fosforiboziltransferaza; APRT = adenin-fosforiboziltransferaza. Linia punctată indică inhibiţia „feed-back".

Din acidul inozinic iau naştere purinnucleotidele: acidul adenilic şi acidul guanilic (4). Primul se produce prin transformarea acidului inozinic în acid adenilsuccinic, prin încorporarea de acid aspartic. În a doua etapă, scindarea unei molecule de acid fumaric dă naştere acidului adenilic (AMP). Tot din acidul inozinic, prin etapa intermediară de acid xantilic (xantin-5-fosfat = XMP), se formează acidul guanilic (GMP), amina incorporabilă rezultînd din glutamină sau amoniac.

Interconversiunea purinelor

Între aceşti produşi purinici există o adevărată interconversiune, reacţiile producîndu-se în ambele sensuri (vezi fig. 12—3 bis), dar fiind catalizate de enzime diferite. Astfel, acidul adenilic se transformă în acid inozinic sub acţiunea enzimei *5-adenilicdezamidază*; acidul guanilic, sub acţiunea *enzimei guanilicdezamidaza*. Dar şi cele două purinnucleotide (acid adenilic şi guanilic) pot fi interconvertite între ele. Acest proces se petrece tot prin răspîntia acidului inozinic. Aşa, de exemplu, acidul adenilic se transformă în acid inozinic, aşa cum s-a arătat mai sus, iar apoi, sub acţiunea enzimei *inozin-5-fosfat-dehidrogenază*, trece în acid xantilic (XMP). Acesta se transformă apoi în acid guanilic, prin captarea unei grupări amino donată de glutamină; reacţia este catalizată de *xantin-5-fosfatamidază*. Inversul reacţiei, adică transformarea acidului guanilic în acid adenilic, se efectuează similar tot pe calea acidului inozinic. Acest produs intermediar trece în acid adenilsuccinic, sub acţiunea *adenilsuccinsintetazei*, iar, mai apoi, se formează acidul adenilic prin reacţia catalizată de *adenilsuccinază*. Fosforilarea produselor din mono în trifosfat se efectuează prin diverse kinaze.

Acţiunea de cruţare a purinelor (salvage pathway)

Este important de precizat că sinteza „de novo" (vezi pag. 273- are loc în special la nivelul ficatului. În numeroase ţesuturi extrahepatice, de exemplu în măduva osoasă, enzima PRPP-amidotrans feraza lipseşte sau e în cantitate redusă, astfel încît sinteza „de novo" este foarte limitată. În astfel de ţesuturi, sinteza de nucleotide depinde de purinele sau precursorii purinici furnizaţi de ficat sau de purinele „recuperate" din procesul de degradare al nucleoproteinelor. Organismul posedă, aşadar, şi capacitatea de a sintetiza nucleotide din bazele purinice corespunzătoare. Aşa, de exemplu, sub acţiunea unei *nucleozidfosforilaze* se pot forma nucleozide din baza purinică şi ribozo-1-fosfat, iar apoi nucleozidele formate se transformă în nucleotidele corespunzătoare, sub acţiunea unor kinaze. O a doua cale mai directă, care duce la formarea de nucleotide prin mecanism în „scurt circuit", pare a fi însă mai importantă din punct de vedere fiziologic (salvage pathway).

În această reacţie, care asigură „cruţarea" purinelor, este vorba despre legarea unei baze purinice direct de fosforibozil-pirofosfat (PRPP). Guanina, hipoxantina şi xantina sînt cuplate cu PRPP sub

acțiunea enzimei *hipoxantin-guanin-fosforiboziltransferaza* (HGPRT), adenina este încorporată în nucleotidul corespunzător, sub acțiunea unei enzime specifice *adenin-fosforiboziltransferază* (APRT) (vezi fig. 12—3 bis).

Existența acestei căi de cruțare a purinelor explică de ce, în condiții normale, foarte puține purine din țesuturile extrahepatice ajung să fie pierdute din celule și să fie captate de ficat spre a fi catabolizate în acid uric (15).

Controlul sintezei de purine

Reglarea proceselor de sinteză menționate mai sus se face printr-un mecanism de feed-back negativ, în sensul că produsele finale, respectiv nucleotidele, exercită o inhibiție asupra enzimei cheie a sintezei lor „de novo", adică asupra amidotransferazei (vezi fig. 12—3 bis).

Un mecanism similar de reglare există și în cadrul căii directe de sinteză a nucleotidelor, în sensul că acidul adenilic inhibă activitatea enzimei APRT, iar acizii inozinic și guanozinic inhibă activitatea enzimei HGPRT. Tot prin mecanisme de acest tip se reglează și procesul de interconversiune a nucleotidelor, realizîndu-se astfel un echilibru între adenilat și guanilat. Așa cum se va vedea pe parcurs, dereglarea acestor mecanisme de control a sintezei purinelor, joacă un rol deosebit de important în patologie.

Catabolismul purinelor

Ultima etapă a catabolismului nucleotidic și purinic reprezintă în același timp și calea de formare a acidului uric, produs final al catabolismului purinelor la om și maimuțele antropoide (a se vedea mai jos).

Catabolismul nucleoproteinelor și nucleotidelor tisulare implică însă, într-o primă etapă, eliberarea purinelor libere prin reacții catalizate de nucleaze, nucleotidaze (nucleozid-5-fosfataze) și nucleozidaze (nucleozidfosforilaze). Aceste enzime sînt prezente și în tubul digestiv (vezi pag. 273). La aceste purine libere, provenite din degradarea nucleoproteinelor proprii, se adaugă purinele din alimente. Sinteza hepatică „de novo" contribuie și ea la acest rezervor (pool) de purine, care urmează a fi degradate. Această degradare a bazelor purinice implică un proces de dezaminare și un proces de oxidare. Așa, de exemplu, guanina se dezaminează sub acțiunea *guanazei* și

trece în xantină, iar adenina se transformă în hipoxantină, sub acțiunea *adenazei*. Această ultimă enzimă pare a se găsi însă în cantități foarte reduse în țesuturile animale, care conțin însă cantități apreciabile de *adenozindeaminază*, care produce dezaminarea adeninei, în timp ce aceasta se află încă cuplată cu riboza, sub formă de nucleozid. Nucleozidul dezaminat care rezultă, respectiv inozina, este apoi scindată și eliberează hipoxantina. Acest compus trece apoi în xantină, printr-un proces de oxidare produs sub acțiunea *xantinoxidazei*. Tot sub acțiunea xantinoxidazei, xantina trece în acid uric (vezi fig. 12—3 bis și 12—4).

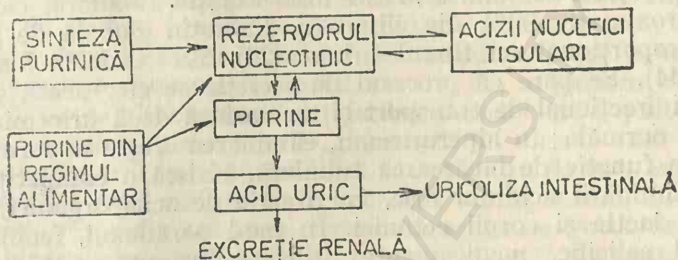


Fig. 12—4. **Originea și soarta purinelor din organism (schemă generală) (după Talbott (13)).**

La unele specii animale, acidul uric poate fi degradat pînă la amoniac și bioxid de carbon prin următoarele secvențe:
acid uric $\xrightarrow{\text{uricază}}$ alantoină $\xrightarrow{\text{alantoinază}}$ acid alantoic $\xrightarrow{\text{alantoicază}}$ acid glioxalic + uree $\xrightarrow{\text{urează}}$ $2NH_3 + CO_2$.
Gradul de degradare poate fi total (la nevertebrate) sau parțial (de exemplu pînă la uree la unii pești). La om, pe lîngă eliminarea prin rinichi a acidului uric (vezi mai jos), există și posibilitatea unei uricolize intestinale, exercitată pe de-o parte de mucoasa intestinală, iar, pe de altă parte, de bacteriile florei intestinale (13). De notat că la animalele de experiență dotate cu uricază (de ex. șobolanii), acumulările de acid uric se pot realiza doar dacă această enzimă este inhibată cu ajutorul acidului oxonic (alantoxonic), un produs artificial de oxidare a acidului uric (52).

Excreția

Acidul uric se elimină din organism mai ales pe cale renală (9), prin procese complexe atît de filtrație-reabsorbție, cît și — mai ales — de secreție tubulară. Cantitatea eliminată zilnic prin urină

este în jur de 500 mg, din care absoluta majoritate prin secreție tubulară. Mai puțin de 200 mg se elimină din organism prin uricoliză intestinală. Cifrele privind eliminările totale de acid uric variază în funcție de ingestie sau/și catabolism tisular (între 500—1200 mg/24 ore). Filtrarea glomerulară a acidului uric este practic totală, fără nici o restricție la om. Reabsorbția tubulară a uraților filtrați este și ea aproape totală. Locul exact al reabsorbției în tubi este controversat (probabil tubul proximal). Există o capacitate maximală de reabsorbție care ar fi de 15 mg/minut, cifră care, în general, nu este atinsă nici la încărcări mari cu acid uric. Procesul principal de excreție a acidului uric este însă secreția tubulară, care reprezintă aproximativ 90% din eliminări. Excreția globală de acid uric crește proporțional cu fluxul urinar (24). Ea scade în insuficiența renală (44). Se pare că procesul de secreție se efectuează printr-un sistem bidirecțional de transport și nu variază dacă uricemia se află în limite normale; în hiperuricemii, eliminarea crește în formă hiperbolică, în funcție de încărcarea tubulară. Există o competiție tubulară a eliminării acidului uric, cu o serie de acizi organici, cum ar fi acidul lactic și corpii cetonici. În mod paradoxal, fenilbutazona și acidul salicilic, medicamente utilizate în gută, pot duce la o scădere a excreției renale. În doze mari și experiment acut, diureticele potente produc creșterea uricozuriei, dar administrate în doze mici cronice ele predispun la retenție de acid uric și implicit la hiperuricemie.

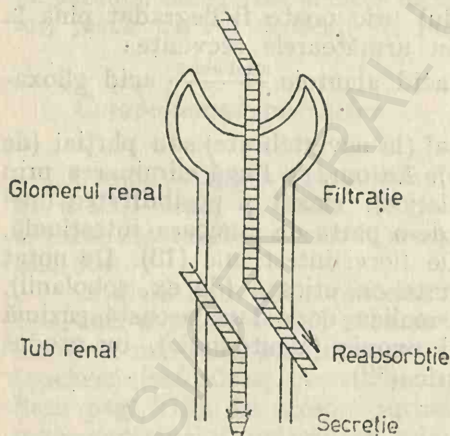


Fig. 12—5. Eliminarea renală a acidului uric. Filtrația glomerulară este completă; reabsorbția tubulară practic totală; factorul decisiv în excreție este secreția tubulară. (după Their și Vessler (14)).

În funcție de acești parametri: absorbție, sinteză și eliminare, se realizează un rezervor (miscible pool) de acid uric în organism (cca 1200 mg), o parte din acesta circulînd în sînge și determinînd uricemia.

Uricemia

Dozarea acestui parametru se face în principiu pe cale chimică sau enzimatică. Metoda chimică se bazează pe reducerea acidului fosfotungstic la pH 9—10 și pe producerea unei culori albastre. Metoda enzimatică

este însă mai precisă. Concentrația acidului uric în sînge este aproximativ egală cu aceea din lichidul interstițial, mai redusă, în lichidul sinovial, LCR și salivă, foarte scăzută în sudoare. Valorile normale serice se cifrează între 2,5—7 mg/100 ml (47). În general, ele sînt în relație cu sexul (2,5—6 mg/100 ml, la femei, și 3,5—7 mg la bărbați), cu greutatea corporală (mai mare la obezi) și cu factori rasiali. De notat că, după menopauză, valorile uricemiei la cele două sexe se egalează (41). Cea mai mare parte a acidului uric circulă în sînge (plasmă) sub formă liberă și doar o mică parte (variind după autor între 5—20%) poate fi legată de proteinele serice (mai ales de alfa$_1$- și alfa$_2$-globuline); această fracțiune este însă neglijabilă din punct de vedere practic la determinările de laborator, dacă se efectuează o deproteinizare a serului, eliberîndu-se astfel acidul uric legat. Primenirea (turnover) acidului uric din organism cuprinde 50—75% din totalul rezervorului miscibil, astfel încît o parte considerabilă a uratului existent este „primenit" în cursul unei zile. În general, valorile uricemiei se modifică foarte puțin de la o examinare la alta, existînd mici variații în cicluri de 2—3 săptămîni. În funcție de creșterile, respectiv scăderea, uricemiei se poate vorbi de hiper-, respectiv hipouricemii, eventualități ce urmează a fi discutate.

ANOMALII ALE METABOLISMULUI PURINIC

Hiperuricemii

Valorile uricemiei pot depăși limitele normalului; se vorbește în aceste cazuri de hiperuricemie. În general, se consideră limita superioară a normalului 7 mg/100 ml. Hiperuricemiile, mult mai frecvent întîlnite decît hipouricemiile, pot fi însoțite de manifestări clinice de gută sau nu. Se consideră totuși că orice valoare de peste 10 mg/100 ml trebuie tratată (46). Deși, cel puțin teoretic, un aport alimentar crescut în purine ar putea duce la hiperuricemie, practic, acest lucru nu se produce, întrucît o funcție renală bună asigură eliminarea aproape nelimitată a unui aport crescut. În general, în funcție de mecanismul lor de producere, hiperuricemiile pot fi împărțite în două mari categorii (15): cele secundare și cele primare. În primele, creșterea uricemiei se produce drept consecință a existenței altor stări patologice cunoscute, prin medicamente sau/și modificări ale excreției renale. Evident, acestea „sublata causa, tollitur effectus", dispar după vindecarea sau înlăturarea cauzei producătoare. Cele

primare sînt date fie de mecanisme încă neclare, fie prin enzimopatii cu caracter ereditar. Situaţia este asemănătoare cu aceea din hipertensiunea arterială, în cadrul căreia se disting de asemenea forme secundare, cu cauză cunoscută, şi primare (esenţiale). Ca şi în aceste cazuri şi în hiperuricemii trebuie excluse, în primul rînd, cele secundare.

Hiperuricemii secundare

Principial, aceste stări pot fi produse fie printr-o hiperproducţie de acid uric, fie printr-o eliminare renală scăzută, uneori asociindu-se ambele mecanisme. În primul rînd, în faţa unei valori crescute a uricemiei, trebuie exclusă eventualitatea ca reacţia chimică pentru dozare să fi fost deranjată de anumite substanţe chimice. Astfel, acidul ascorbic, chiar glucoza, salicilatul, metilpurinele (cofeina), paracetamolul, unele antibiotice, L-DOPA, metil-DOPA, 6-mercaptopurina etc. pot da valori fals ridicate cu metodele colorimetrice. Dacă acesta nu este cazul, ne vom gîndi la hiperuricemii prin supraproducţie de acid uric. De multe ori, această hiperproducţie se datoreşte unui catabolism nucleoproteinic crescut. În această categorie de hiperuricemii se încadrează aşa-zisul sindrom mieloproliferativ. Este vorba despre proliferarea nelimitată a unor celule suşă hematoformatoare, şi care, distrugîndu-se în număr foarte mare, dau naştere unei cantităţi mari de nucleoproteine, care ajung ca ultimă etapă catabolică — la acid uric. Reamintim cu acest prilej că, în mod normal, purinele eliberate prin catabolismul nucleoproteinic sînt în mare măsură reutilizate pentru sinteza de nucleotide, prin aşa-zisa „salvage pathway" (vezi pag. 277). Această cale este evident depăşită în caz de distrucţii celulare masive. Hiperuricemia însoţeşte foarte frecvent mieloza leucemică (mult mai rar limfadenoza) şi mai ales policitemia (mai rar poliglobuliile secundare), ambele afecţiuni survenind în cadrul sindromului mieloproliferativ. Atît leucemiile cronice cît şi cele acute pot produce hiperuricemie, mai ales în timpul terapiei aplicate (distrugere celulară crescută). Hiperuricemie se poate constata însă şi în alte afecţiuni hematologice cum ar fi mielomul multiplu, boala Hodgkin, alte malignităţi şi chiar mononucleoza infecţioasă, probabil prin creşterea metabolismului purinic din leucocitele anormale (15). În unele anemii, mai ales hemolitice, poate apare de asemenea hiperuricemie. Creşterea nivelului plasmatic al acidului uric survine mai rar în anemiile megaloblastice şi cu totul excepţional în unele sindroame hemoragipare (hemofilie, boala von Willebrand). Hiperuricemia poate fi întîlnită şi în afecţiuni nehematologice. Aşa, de exemplu, hiperuricemia poate surveni la 30—50% dintre bolnavii cu psoriazis.

Ea a fost pusă în legătură cu o eventuală creştere a proceselor de turnover interesînd acizii nucleici şi nucleotidele din leziunile psoriotice. La acest mecanism, s-ar putea asocia însă şi unele anomalii enzimatice ale psoriaticilor.

Hiperuricemia, secundară unui deficit în metabolismul hidraţilor de carbon, a fost descrisă în glicogenoza de tip I sau boala lui von Gierke. În acest deficit familial de glucozo-6-fosfatază (vezi volumul I, pag. 190), excesul de glucozo-6-fosfat trece pe calea șuntului hexozomonofosfatic (vezi vol. I, p. 156), formîndu-se mari cantităţi de pentoze (ribozofosfaţi), care pot trece spre formarea de fosforibozilpirofosfat (PRPP), implicat în procesul purinogenezei (vezi pag. 274). Evident că, în astfel de cazuri, hiperuricemia prin supraproducţie este rezultatul unei exagerări a sintezei „de novo" și nu al unei distrucţii crescute de nucleoproteine. Întrucît în glicogenoza de tip I, lipsa glucozei libere în sîngele circulant duce la creşterea acizilor graşi liberi şi a corpilor cetonici, eliminarea urinară a acestora din urmă interferează cu excreţia acidului uric şi contribuie la uricemie şi prin acest mecanism. Tot printr-o supraproducţie „de novo" se produce uricemie în cursul ingestiei (36), dar mai ales a infuziei acute de fructoză sau de xilită (43), precum și în cazurile de intoleranţă ereditară la fructoză (31).

O mare parte a hiperuricemiilor secundare este dată însă de tulburări ale excreției renale de acid uric. Astfel de tulburări apar în toate insuficienţele renale cronice (glomerulonefrită cronică, scleroză renală, nefropatia saturnină, amiloidoză etc.).

O altă categorie de hiperuricemii renale sînt acelea date de o inhibiţie a secreției tubulare a acidului uric, fără leziune propriuzisă renală. Se știe că excreţia de acizi organici inhibă competitiv pe aceea a acidului uric, deci o creștere a acestora în organism va duce inevitabil la hiperuricemie. În cazurile de hiperlactacidemie de orice cauză, poate apare hiperuricemie. Exemplul clasic este acela al alcoolului care, prin oxidare, trece în acetaldehidă, rezultînd astfel cantități sporite de $NADH_2$ şi favorizîndu-se transformarea acidului piruvic în lactic. Acelaşi lucru se întîmplă și în toxemia gravidică (hiperproducţie de lactat) sau în puseurile de insuficienţă respiratorie din bronhopneumopatiile cronice obstructive (49), în infarctul miocardic, faza acută (38), şi în cardiopatii congenitale cianogene (40). Alteori cresc alţi acizi organici (corpii cetonici); astfel în coma cetoacidozică diabetică şi mai ales în cursul foamei totale (și terapeutice), se poate ajunge la hiperuricemie. La tulburarea eliminării acidului uric contribuie însă şi scăderea clearance-ului renal prin hipovolemie (26). Foamea prelungită nu mai produce însă hiperuricemii (30). Din acest motiv, uneori în cursul curei acute de foame se poate

indica terapia hipouricemiantă (37). Unele medicamente ca pirazinamida sau salicilaţii, în doze mici, pot inhiba şi ele excreţia acidului uric. Unele medicamente diuretice produc şi ele hiperuricemie. În această categorie intră toate tiazidele, furosemidul, acidul etacrinic, (edecrinul) şi chiar diureticele mercuriale; în schimb nici spironolactona şi nici triamterenul nu interferează cu eliminarea acidului uric. De notat însă că diureticele acţionează şi prin reducerea volemiei. Hiperuricemia mai poate apare şi în alte boli, le înşirăm doar: mixedem, hiperparatiroidism, sindrom Down (mongolism), maple syrup disease, intoxicaţii cu săruri de beriliu etc.

Hiperuricemia se asociază uneori cu o serie de boli, natura legăturii dintre ele nefiind exact cunoscută. Astfel, în obezitate (28) şi în hipertrigliceridemie (29, 48), se constată frecvent hiperuricemie. În diabetul zaharat (în afara cetoacidozei), uricemia poate fi normală sau ridicată, în acest ultim caz fiind vorba mai degrabă despre coexistenţa unei nefropatii diabetice, care reduce excreţia acidului uric (27). Există, de asemenea, o asociere frecventă între hipertensiunea arterială şi hiperuricemie, iar aceasta din urmă pare a fi un factor de risc, de sine stătător, pentru cardiopatia ischemică (40).

Hiperuricemii primare

Spre deosebire de hiperuricemiile secundare, care au la bază o boală cunoscută, există cazuri în care elementul patologic principal este creşterea uricemiei, care nu este cauzată de vreo boală cunoscută. În aceste cazuri, se vorbeşte de hiperuricemii primare. În această categorie se încadrează, pe de o parte, guta, pe de altă parte, hiperuricemiile de origine enzimopatică primară, prin defect ereditar, însoţite sau nu de gută sau/şi alte fenomene (8).

Guta

Guta propriu-zisă este o boală de mult cunoscută care a însoţit istoria omenirii de-a lungul mileniilor. Deşi se ştie că fenomenele articulare şi de altă natură din cadrul bolii sînt produse de acumularea de acid uric, originea acestor hiperuricemii nu este exact cunoscută. În cele ce urmează, se va descrie, extrem de scurt, clinica gutei, aceasta găsindu-se în orice tratat de medicină internă. Se va insista în schimb asupra altor aspecte: în primul rînd asupra mecanismelor de producere posibile ale bolii în general; asupra bazei fiziopatologice şi mai ales biochimice a simptomelor acute, ale celor cronice, ale complicaţiilor şi, în sfîrşit, asupra mecanismului de acţiune al medicamentelor în gută.

Chiar dacă nu se cunoaşte exact etiopatogeneza bolii, se ştie că, în principiu, la baza ei stă o hiperuricemie cu toate consecinţele acesteia. Aşa cum s-a arătat mai sus, o hiperuricemie poate apărea fie printr-o hiperproducţie de acid uric, fie printr-o eliminare deficitară a acestuia (în special renală), sau ambele mecanisme împreună. Cele mai multe rezultate ale cercetărilor biochimice referitoare la gută şi în special constatările privind încorporarea crescută de glicocol—^{15}N în uraţi la gutoşi, subliniază importanţa hiperproducţiei de acid uric. Teoretic, acest fenomen se poate produce pe trei căi (15): 1) defecte metabolice care duc la o creştere a substratului sintezei: 1 — glutamină sau/şi PRPP; 2) anomalii producînd creşterea activităţii primelor enzime implicate în sinteza purinelor (PRPP sintetază şi glutamic-PRPP-amidotransferază) şi 3) defecte în procesul de control, prin feed-back negativ, a sintezei purinice. Aceste mecanisme sugerate de Zöllner (17) se vor analiza pe scurt mai jos.

Ad.1. Cercetările izotopice la gutoşi au pus în evidenţă modificări ale cineticii glutaminei. Întrucît aceste particularităţi nu se constată la toţi bolnavii, iar, pe de altă parte, transpunerea lor ca atare în clinică nu se poate face fără rezerve, teoria tulburării metabolismului sau/şi excreţiei glutaminei în patogeneza gutei nu pare a avea temeiuri solide. În ceea ce priveşte rolul PRPP în producerea sintezei crescute de acid uric în gută, se pare că cel puţin unii gutoşi au un turnover realmente crescut al acestui precursor al sintezei purinelor. Din păcate, această observaţie nu dă explicaţii în ceea ce priveşte originea creşterii PRPP.

Ad.2. În ceea ce priveşte enzimele cheie în sinteza purinelor şi rolul lor în gută se pare că deşi glutamin-PRPP-amidotransferaza poate fi hiperactivă la unii gutoşi, ea nu poate fi incriminată în geneza gutei clasice. Acelaşi lucru se poate spune şi despre PRPP-sintetază.

Ad.3. Prin punerea în evidenţă a inhibiţiei sintezei purinice de către nucleotide (vezi pag. 278), s-a presupus că deficitul acestui mecanism de control ar putea fi incriminat în hiperproducţia „de novo" a purinelor şi deci în patogeneza gutei. Un astfel de mecanism pare a interveni într-adevăr în gutele enzimopatice (vezi pag. 289). Nu s-a putut însă dovedi că acest defect, în procesul de feed-back negativ, reprezintă de fapt „primum movens" în guta clasică.

În ceea ce priveşte rolul excreţiei renale a acidului uric în gută se pare că aceasta este într-adevăr mai scăzută la gutoşi, dar în proporţie diferită. Pe baza acestei excreţii, unii autori au împărţit gutoşii în normo-, respectiv hipoexcretori. Această împărţire este reală, dar nu este sigur dacă se poate trage o limită exactă între cele două grupuri, adică a hiperproducătorilor de acid uric şi hipo-

excretorilor. Chiar şi în posesia acestor date de patologie biochimică, trebuie să recunoaştem că, pînă în prezent, nu se cunoaşte exact mecanismul general al producerii gutei.

Simptomul dominant în această boală este constituit de artropatia gutoasă, în forma ei cea mai zgomotoasă, a crizei acute de gută. Aspectul ei clinic este binecunoscut — localizarea predilectă la haluce, fenomenele inflamatorii acute locale şi evoluţia benignă momentană. Se va insista mai jos asupra mecanismului biochimic al producerii *crizei gutoase acute*. Condiţia esenţială a producerii acesteia este prezenţa cristalelor de acid uric, mai ales de urat de sodiu, la nivelul sinovialei articulare. Acest lucru arată rolul iritaţiei mecanice în patogeneza atacului gutos, dar simpla prezenţă a cristalelor nu este suficientă pentru declanşarea crizei; să nu uităm, dealtfel, că tofii gutoşi nu sînt dureroşi. La prezenţa cristalelor de uraţi trebuie să se asocieze şi factorul inflamator, declanşat — dealtfel — de aceste cristale. La baza producerii reacţiei inflamatorii stă leucocitul. Deşi cristalele de uraţi sînt iritante (chiar şi subcutanat), pentru producerea unei reacţii inflamatorii accentuate este nevoie ca aceste cristale să fie fagocitate de către leucocitele polimorfonucleare neutrofile (granulocite). Din acest moment, leucocitele eliberează enzime lizozomale în lichidul sinovial, care produc reacţii inflamatorii la acest nivel. În acelaşi timp, se ştie că cristalele de acid uric produc o activare a factorului XII al coagulării (Hageman), prezent în lichidul sinovial. Acesta, la rîndul lui, duce la activarea sistemului kallikreină-kinine, cunoscut ca mediator important al reacţiei inflamatorii. Se pare că, concomitent, sînt eliberaţi, din sistemul complementului, şi factori chemotactici, care atrag leucocitele; acestea fagocitează din nou cristalele de acid uric şi ciclul se reproduce într-un sens de cerc vicios. Singurul contraargument pentru rolul factorului Hageman este observaţia după care puii de găină, care

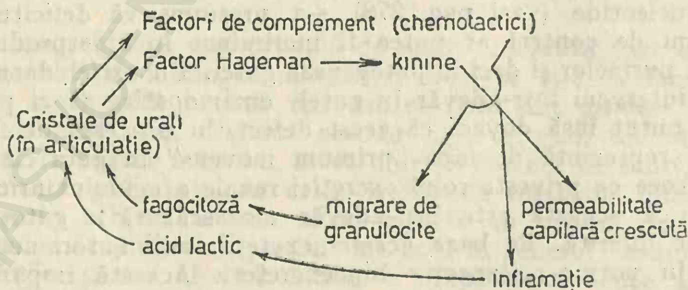


Fig. 12—6. Schema mecanismului de producere în „cerc vicios" al crizei acute de gută. (după Wyngaarden (15) modificată.)

nu au acest factor, pot prezenta totuşi artrită urică experimentală. Acumularea de acid lactic, produs în cursul acestor reacţii, scade pH-ul şi accentuează inflamaţia şi formarea de cristale.

Toţi factorii ce produc hiperuricemie (alcool, foame, alimente bogate în purine) pot duce la declanşarea crizelor (vezi hiperuricemii secundare, pag. 282).

Altfel stau lucrurile însă în *guta cronică*. În cursul acesteia se produc depuneri de uraţi în unele ţesuturi (chiar şi miocard), dar în special în articulaţii şi rinichi. Cele mai multe organe se opun acestei depozitări (ficat, splină, plămîni etc.). Depunerea în cantitate mare la nivel articular şi în cartilagii se exteriorizează de regulă clinic prin aşa-zişii „tofi gutoşi". Reacţia articulară cronică la „agresiunea" urică realizează aspecte clinice similare cu poliartrita cronică (3). Factorii care decid care anume formă de artrită cronică gutoasă se va produce la un anumit individ sînt, în primul rînd, gradul hiperuricemiei şi durata expunerii ţesuturilor la uraţi (în special biuratul de sodiu). În caz de precipitări masive acute de uraţi, apare criza acută (vezi mai sus). În caz de depuneri mici dar de lungă durată, se produc distrugeri ale sinovialei şi cartilagiului articular, cu aspecte clinice de poliartroză. În sfîrşit, dacă situaţia este intermediară, apare poliartrita gutoasă şi mai ales depozitele de uraţi sub formă de tofi. Această concepţie, deşi schematică, pare a corespunde mecanismului fiziopatologic al gutei cronice (4). Aceleaşi considerente sînt valabile pentru depunerile în burse, tendoane etc.

Un alt organ care suferă mult în cursul gutei şi a cărui alterare poate constitui pericolul mortal pentru bolnav este *rinichiul*. Cea mai „zgomotoasă" formă a afectării renale în gută este litiaza urică. Ea survine în aproape 20% a cazurilor de gută. În precipitarea sub formă de calculi a uraţilor, un rol important îl joacă aciditatea urinii, explicîndu-se astfel existenţa unor litiaze urice fără hiperuricemie evidentă. Subliniem că litiaza renală urică nu este apanajul exclusiv al gutei şi poate surveni în orice afecţiune cu hiperuricemie. Infiltraţia intraparenchimatoasă cu cristale de acid uric poate duce la o nefropatie interstiţială, la care contribuie şi infecţia urinară, consecutivă nefropatiei obstructive. Pe de altă parte, foarte mulţi gutoşi sînt şi hipertensivi, ceea ce poate duce de asemenea la modificări renale, mai mult arteriolare. Se pare că noţiunea de nefropatie gutoasă este rezultanta tuturor acestor procese intricate între ele (9).

Hiperuricemia se asociază frecvent cu obezitatea, diabetul zaharat şi hipertrigliceridemia (hiperlipemia tip IV şi V), realizînd un aşa-zis „sindrom metabolic", dar mecanismul biochimic al acestei asocieri nu este încă elucidat. Guta reprezintă totodată un factor de

risc pentru tromboza coronariană și cerebrală, iar plăcuțele sanguine sînt mai reactive la pacienții gutoși și la șobolanii alimentați cu un regim bogat în nucleoproteine și tratați cu acid oxonic, un inhibitor al uricazei (vezi și pag. 279). Nu s-a putut însă preciza dacă acidul uric acționează direct asupra plăcuțelor sau dacă reactivitatea acestora se modifică în urma alterării condițiilor de curgere a sîngelui prin vasele în care s-au format depozite de acid uric (52).

În final, se va insista pe scurt asupra bazelor fiziopatologice și biochimice ale *terapiei antigutoase* (13). Dacă principial guta, și mai ales forma ei acută, este determinată, pe de o parte, de urați, iar, pe de alta, de reacția inflamatorie din jur, în mod logic medicamentele aplicate trebuie să-și îndrepte acțiunea lor împotriva acestor doi factori. Din punct de vedere al acțiunii lor, ele pot fi clasificate în medicamente care interferează cu reacția inflamatorie gutoasă acută, preparate care modifică transportul renal al acidului uric, cele care intervin în biosinteza acidului uric și cele cu acțiune dublă.

În criza acută de gută, unde inflamația joacă rolul cel mai important, se vor administra medicamente cu acțiune antiinflamatorie. Oarecum specifică pentru gută, în acest sens, este colchicina. Cunoscută din antichitate, ea are o acțiune promptă în atacul acut. Se pare că colchicina intră în granulocit și produce o distrucție a microtubulilor din citoplasmă. Acțiunea antiinflamatorie în gută este dată însă nu de acest fenomen, ci mai degrabă de inhibarea motilității leucocitare. Fiind și un antimitotic, în doze mari și prelungite, colchicina poate produce leziuni ale măduvei hematoformatoare, azoospermie și chiar alterații cromozomiale. Celelalte medicamente antiinflamatoare, utilizate în guta acută, sînt identice cu cele aplicate în orice inflamație articulară: butazolidina (fenilbutazona), oxifenilbutazona (Tanderil) și indometacina (Indocid). Ele par a acționa prin inhibiția prostaglandinelor proinflamatoare. Alte derivate salicilice (salicilatul de sodiu, aspirina) au un efect mai slab în guta acută, acționînd mai mult uricozuric (vezi mai jos).

Un alt grup de medicamente produce o creștere a eliminării acidului uric prin rinichi. Această acțiune este uneori paradoxală pentru salicilați, întrucît variază în funcție de dozaj. Salicilații și aspirina (aceasta din urmă se transformă în organism tot în salicilat), în doze mici, inhibă secreția tubulară de urați, iar în doze mari, inhibă reabsorbția tubulară. În doze intermediare, efectele pot să se neutralizeze. Dar substanța cea mai uricozurică este Benemidul (Probenecid), atît ca atare cît și prin metaboliții săi care produc o inhibiție a reabsorbției tubulare, cît și o creștere a secreției. Administrarea concomitentă de aspirină poate însă avea efect paradoxal de reducere a uricozuriei. Sulfinpirazona (Anturan) acționează

similar deşi derivă din fenilbutazonă. Alături de efectele sale uricozurice, Anturanul are şi proprietatea de a inhiba funcţiile plăcuţelor sanguine şi prin aceasta ar reduce mortalitatea după infarctul miocardic (51). Benzbromarona produce uricozurie mare, chiar împreună cu salicilatul, şi împiedică hiperuricemia tiazidică, fără a interfera cu diureza. Se poate asocia cu allopurinol (39).

Medicamentul care produce cea mai intensă inhibiţie a sintezei de acid uric este Ziloprimul (Allopurinol). Fiind un analog chimic al xantinei, el este un inhibitor puternic al xantinoxidazei, interferînd deci cu transformarea hipoxantinei în xantină şi respectiv a acesteia în acid uric (vezi fig. 12—3 bis). Întrucît, prin mecanismele arătate mai sus, se produce creşterea xantinei (acumulare de precursor) allopurinolul poate duce la litiază xantică, deşi xantina este mai solubilă decît acidul uric. Preparatul produce de asemenea şi o eliminare crescută de acid orotic (mecanism neelucidat). Efectele hipouricemiante ale allopurinolului sînt potenţate prin probenecid. De notat că, corticoterapia concomitentă îi reduce acţiunea (19).

Amintim şi unele medicamente cu acţiune dublă, în sensul că, pe lîngă acţiunea lor asupra altor procese morbide, au şi un efect asupra eliminării de acid uric prin rinichi. Această acţiune este de regulă independentă de cea principală. Aşa sînt, de exemplu, un medicament antidiabetic Acetohexamida (Dimelor) şi unul hipolipemiant (asemănător cu clofibratul) Halofenatul. Întrucît mulţi gutoşi pot avea şi diabet sau/şi hiperlipoproteinemie, aceste medicamente constituie un real beneficiu în terapia unor astfel de cazuri. Alegerea medicamentului antigutos aplicat se va face deci pe baza mecanismelor biochimice arătate mai sus, după cum se urmăreşte un efect antiinflamator sau de mobilizare a tofilor gutoşi. Se va acorda atenţie litiazei urice, care poate fi accentuată de medicamentele care cresc excreţia acidului uric.

Hiperuricemii primare prin enzimopatii

Deşi nu se poate exclude rolul eventual al unei enzimopatii în guta primitivă, în ultima vreme s-au descris cîteva sindroame clinice care se prezintă sub formă de gută, sînt asociate şi cu alte manifestări şi se produc din cauza unor modificări enzimatice cu caracter genetic. Aceste boli se întîlnesc, de obicei, la vîrsta copilăriei, gravitatea lor împiedicînd de cele mai multe ori atingerea maturităţii. Ele formează doar 5% dintre pacienţii cu sindrom gutos. Descrierea lor este totuşi importantă deoarece ele constituie adevărate „experi-

mente ale naturii" şi au ajutat la elucidarea mecanismelor metabolismului purinic. Cea mai cunoscută anomalie de acest fel este *boala (sau sindromul) Lesch-Nyhan.* Copiii cu această boală se nasc normali, dar, la aproximativ un an de la naştere, încep să prezinte simptome neurologice, ca spasticitate, atetoză şi retardare mintală; în aproximativ 50% din cazuri, apar crize epileptiforme (50). Unii copii prezintă şi malformaţii congenitale şi anemie megaloblastică. Dar simptomul cel mai caracteristic al bolii este automutilarea. Copiii au tendinţa să-şi roadă falangele şi buzele şi, uneori, pot deveni agresivi faţă de persoanele din anturaj. În plus, cei mai mulţi manifestă şi o gută severă, precum şi litiază urică. Din punct de vedere biochimic, la aceşti bolnavi, se constată o hiperproducţie excesivă de acid uric. Defectul enzimatic, ce stă la baza acestei hiperproducţii, este deficitul (sau lipsa) enzimei hipoxantinguaninfosforiboziltransferaza (HGPRT). Locusul genetic al acestei enzime este pe braţul lung al cromozomului X şi, ca atare, boala va fi prezentă la bărbaţi, femeile fiind transmiţătoare. S-au descris deficienţe totale sau parţiale de enzimă; se pare că existenţa doar de 1% din activitatea enzimatică normală poate preveni simptomele neurologice, dar nu pe cele gutoase. Acumularea masivă de acid uric se datoreşte următoarelor secvenţe biochimice: lipsa enzimei HGPRT face imposibilă sinteza din guanină şi hipoxantină a nucleotidelor respective (salvage pathway) (vezi pag. 277). Aceste nucleotide sînt însă inhibitori ai sintezei „de novo" a purinelor. Scoaterea din funcţie a acestui mecanism de control (vezi pag. 278) duce la o sinteză „de novo" excesivă de acid inozinic şi implicit de acid uric. Dovada, în acest sens, o constituie evidenţierea unei hiperproducţii de fosforibozilpirofosfat (PRPP), precursor al sintezei „de novo" a purinelor (45). Explicaţia biochimică a modificărilor neuropsihice este mai dificilă. Se pare că acestea nu depind de nivelul uricemiei (gutoşii *nu* au fenomene neurologice!). Acumularea în sistemul nervos central a hipoxantinei şi xantinei ar putea explica doar parţial fenomenele. Se pare însă că SNC ca şi alte ţesuturi extrahepatice recurg la sinteza „in situ" de nucleotide direct din purine, prin reacţia catalizată de HGPRT. Blocarea acestei căi directe (salvage pathway), în sindromul Lesch-Nyhan, produce astfel o depleţie de nucleotide necesare celulelor nervoase. Anemia megaloblastică prezentă uneori în acest sindrom este explicată prin relativa reducere a cantităţii de tetrahidrofolat, utilizat în exces în purinosinteză. Hiperuricemia din sindromul Lesch-Nyhan este influenţată favorabil de Allopurinol. Acest inhibitor al xantinoxidazei nu reduce însă purinosinteza crescută la aceşti bolnavi, iar acumulările de xantină creează pericolul litiazei xantice. Fenomenele nervoase se pot ameliora

cu adenină, care poate trece în acid inozinic, ocolindu-se blocajul enzimatic. Încorporarea adeninei în nucleotide este posibilă întrucît acest proces nu se face prin HGPRT, ci printr-o altă enzimă, adenin-fosforiboziltransferaza (APRT) (vezi fig. 12—3 bis). O foarte interesantă observaţie recentă arată că administrarea de L-5-hidroxitriptofan poate preveni tendinţa la automutilare, în această boală (42).

În afară de clasica boală Lesch-Nyhan, s-au mai descris unele familii cu producere excesivă de acid uric şi gută, dar fără fenomene nervoase. Astfel, au fost observaţi bolnavi cu deficit în enzima APRT (18). Nu toţi bolnavii cu acest deficit prezintă însă gută (este adevărat însă că deficitul enzimatic descris a fost doar parţial). De asemenea există cazuri ce prezintă o sinteză crescută urică nu prin deficit ci prin exces de enzimă; este vorba despre PRPP-sintetază, enzimă cheie în sinteza purinică.

Interrelaţii interesante se întrezăresc între metabolismul purinic şi sistemul imunitar. Astfel, în deficitul sever de adenozindeamidază s-a descris o boală imunodeficitară, interesînd sistemul celulelor timodependente (limfocite T). Aceeaşi anomalie a fost semnalată şi la o familie cu deficit de purin-nucleozid-fosforilază (22).

Hipouricemii

Scăderea uricemiei sub limita inferioară a valorilor normale (2,5 mg/100 ml, la femei, şi 3 mg/100 ml, la bărbat) constituie hipouricemia. Ea este mult mai rar întîlnită ca hiperuricemiile şi este dată de foarte diferite condiţii patologice. Hipouricemia poate surveni atît în boli ale unor organe, cît şi prin mecanism iatrogen, în urma administrării unor medicamente. Alteori, hipouricemia poate fi consecinţa unor defecte enzimatice generale sau renale. Acestea din urmă, deşi extrem de rare, sînt însă interesante din punct de vedere biochimic (35).

Hipouricemii secundare

Întrucît, acidul uric este sintetizat în special în ficat, se poate presupune că în afecţiunile parenchimatoase hepatice grave, nivelul uricemiei ajunge să scadă. Întradevăr, în unele cazuri de insuficienţă hepatică, s-a descris hipouricemie; mai mult, într-un caz de gută cu hepatită gravă, uricemia a scăzut sub 4 mg/100 ml. Nu se ştie de ce, în secreţia inadecvată de hormon antidiuretic survine hipo-

uricemia. Rareori, în cursul bolii Wilson, s-a observat hipouricemie. Se pare că în aceste cazuri este vorba despre o eliminare renală crescută de acid uric, uneori asociată şi cu aminoacidurie. Terapia cu D-penicilamină a ameliorat nu numai boala Wilson, dar şi hipouricemia. În unele cazuri de malignităţi (Hodgkin, mielom, neoplasm pulmonar), s-au descris de asemenea hipouricemii, dar numai în asociere cu aminoacidurie (altfel bolile de mai sus produc în general hiperuricemie). Administrarea unor medicamente duce, de asemenea, la hipouricemie; este vorba în primul rînd, bineînţeles, despre uricozurice, ca probenecidul, şi inhibitori ai sintezei acidului uric, ca allopurinolul. Scăderea uricemiei se constată, uneori, şi în urma administrării de substanţe de contrast iodate (13).

Hipouricemii primare (defectele tubulare, xantinuria ereditară)

În foarte rare cazuri s-au semnalat hipouricemii drept consecinţă a unui defect tubular renal cu caracter genetic, care interesează, în mod selectiv, retroresorbţia acidului uric. În aceste cazuri, clearance-ul uric poate depăşi cu mult pe cel creatininic.

În unele cazuri, cu deficit de purinnucleozidfosforilază, inozina nu se mai incorporează în nucleotid (acid inozinic), trece în eritrocit şi se sustrage procesului de formare de acid uric (22).

O cauză, deşi rară, a hipouricemiei, dar care merită să fie menţionată avînd interesante implicaţii biochimice este xantinuria ereditară.

Xantinuria ereditară (15, 30). Boala este rară şi se manifestă rareori pe plan clinic, cînd apare, de regulă, sub forma unei litiaze renale, cu colici şi infecţie urinară. Bănuiala că la baza acestei litiaze stă o xantinurie este susţinută, pe de o parte, prin analiza naturii litiazei (este vorba despre calculi de xantină), iar, pe de altă parte, prin constatarea unei hipouricemii uneori extreme. Dealtfel, diagnosticul se pune de obicei prin descoperirea fortuită a unei hipouricemii, inexplicabilă printr-o altă cauză.

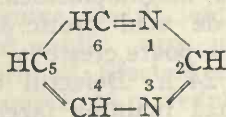
La baza producerii acestei anomalii (poate mai puţin boală) stă deficitul enzimatic în xantinoxidază. Aşa cum sa văzut, această enzimă catalizează trecerea hipoxantinei în xantină şi în acelaşi timp şi oxidarea xantinei în acid uric (vezi fig. 12—3). Deficitul enzimatic, evidenţiat mai ales la nivelul ficatului, poate să ajungă

la 0,1% din activitatea normală. Din cauza blocului metabolic se ajunge la o acumulare enormă de hipoxantină şi mai puţin de xantină în sînge şi în ţesuturi. În mod paradoxal, eliminările urinare se fac predominant pe seama xantinei şi nu a hipoxantinei. Acest lucru este însă explicabil, dacă ţinem cont de faptul că aceasta din urmă poate fi reutilizată în sinteza de purine (prin HGPRT). De notat că xantina poate proveni şi direct din guanină sub acţiunea guanazei (vezi fig. 12—3). Eliminarea masivă de xantină (200—300 mg/24 h faţă de 5—8 mg/24 h la normali) poate duce la litiază xantică, cu toate consecinţele sale. Nu toţi bolnavii cu litiază urinară xantică prezintă însă un deficit de xantinoxidază. Să nu uităm că medicaţia inhibitoare a xantinoxidazei aplicată în gută, — este vorba de allopurinol — produce o eliminare de xantină şi ca atare pericol de litiază xantică, mai ales la cei cu sindrom Lesch-Nyhan (vezi mai sus). Asigurarea unei diureze bogate la cei trataţi cu aceste medicamente poate împiedica producerea precipitării xantinei şi deci a litiazei. În afară de aceasta, se vor limita purinele din alimentaţie, dar nu şi metilxantinele, respectiv cofeina sau teobromina, deoarece acestea nu sînt metabolizate prin reacţia catalizată de xantinoxidază.

METABOLISMUL NORMAL ŞI PATOLOGIC AL PIRIMIDINELOR

Structură şi sinteză

Acizii nucleici din organism au în constituţia lor nu numai purine ci şi pirimidine. Aceastea sînt reprezentate de citozină, uracil şi timină. Citozina este constituient atît al acidului dezoxi- cît şi ribonucleic. Celelalte baze pirimidinice sînt prezente fie în ARN (uracilul) fie în ADN (timină). Structura generală a bazelor pirimidinice este următoarea:



În funcție de prezența unor radicali NH_2 sau/și OH rezultă bazele de mai sus: astfel citozina este o 2-oxi-6-aminopirimidină; timina este o 2,6-dioxi-5-metilpirimidină; iar uracilul o 2,6-dioxipirimidină.

Biosinteza nucleotidelor pirimidinice, spre deosebire de a celor purinice, nu necesită o prealabilă atașare a elementelor constitutive la fosforibozil. Prin urmare, pînă la o anumită etapă, sinteza bazelor pirimidinice se face separat. Această sinteză decurge în șase etape, pornind de la elemente constitutive simple, respectiv de la aspartat și carbamilfosfat. Ultimul ia naștere din CO_2 și glutamină sau amoniac, prin reacția catalizată de carbamilfosfatsintetază (vezi vol. I, pag. 55—56). „Asamblarea" aspartatului cu carbamilfosfatul se face sub acțiunea enzimei *aspartattranscarbamilază* și rezultă carbamilaspartat (altfel zis, acid ureidosuccinic). Acest compus este ciclizat în dihidroorotat, prin enzima *dihidroorotaza* (4,5-L-dihidroorotataminohidratază). Pasul următor este dehidrogenarea în acid orotic, prin reacția catalizată de *dihidrooroticdehidrogenaza NAD-dependentă*. Urmează legarea acidului orotic de riboză și fosfat (fosforibozil), ce se face sub acțiunea enzimei *orotidin-5'-fosfatpirofosforilaza*, în prezența de magneziu. În următoarea etapă, orotidina se decarboxilează (enzima *orotidin-5'-fosfatdecarboxilaza*) și rezultă uridin-5'-fosfat. Menționăm că este posibilă și o formare directă de uridin-5'-fosfat din uracil cu 5-PRPP. Celelalte nucleozide (timidina și citidina) sînt formate ulterior din uridină. De notat că formarea timidinei implică o metilare favorizată de acidul folic și vitamina B_{12}. (vezi fig. 12—7).

Prin anumite deficite enzimatice din ciclul sintetic de mai sus poate apare hiperproducția (respectiv stagnarea retrogradă) de acid orotic, producîndu-se o oroticurie accentuată.

Anomalii ale metabolismului pirimidinic

Oroticaciduria ereditară este o afecțiune foarte rară transmisă autosomal recesiv și caracterizată prin următoarele simptome: retardare în creștere a copilului, uneori fenomene neurologice, paloare, strabism, splenomegalie. Examenul de laborator, cel mai important este cel hematologic, care pune în evidență o anemie hipocromă severă și leucopenie; la puncția sternală se constată o hiperplazie eritroidă și, paradoxal cu hipocromia, megaloblastoză. În toate cazurile, există, bineînțeles, o cristalurie de acid orotic. S-a arătat că în această boală, excreția de acid orotic poate crește la 1 000 ori față de valorile normale de abia 1,5 mg/24 h. Defectul enzimatic, responsabil de producerea bolii, se situează înaintea fazei a V-a, adică a formării

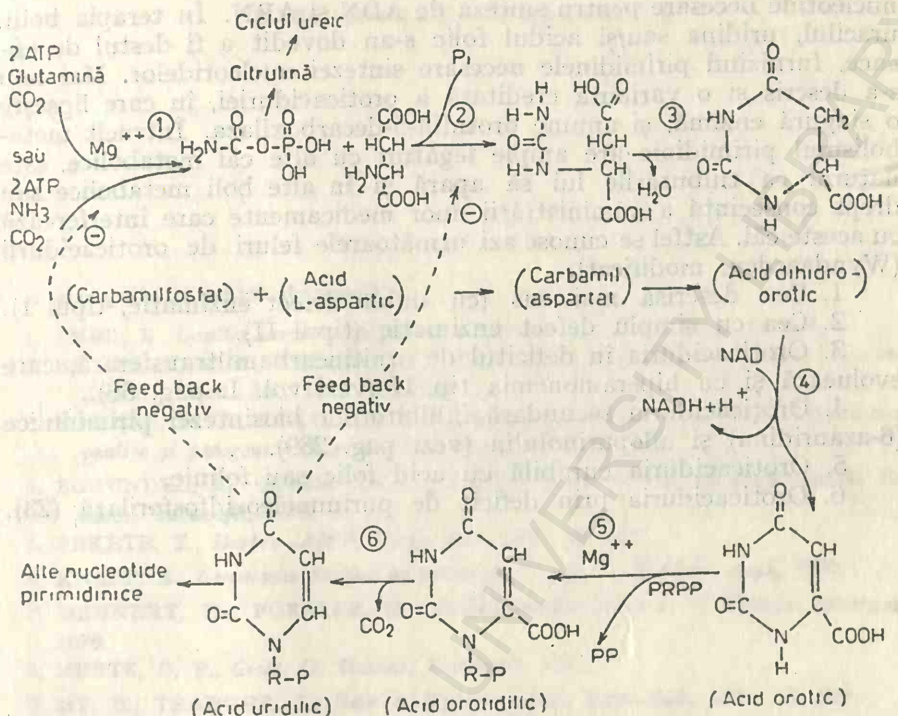


Fig. 12–7. Reprezentare schematică a biosintezei pirimidinelor (după Seegmiller (11) modificată).

Se înfățișează etapele biosintezei precum și feedback-urile negative. În caz de oroticacidurie tip II există un blocaj în etapa 6-a, prin deficit de orotidin-5-fosfatdecarboxilază. În tipul I, există încă un blocaj, și anume la etapa a 5-a, prin deficit concomitent și de orotidin-5-fosfatpirofosforilază. Literele R și P din formula acidului uridilic și orotidilic reprezintă R = riboză; P = fosfat; Pi = fosfat anorganic; PP = pirofosfat. Carbamilfosfatul se poate încorpora și în citrulină, stabilindu-se astfel legătura cu ciclul Krebs-Henseleit (ureogenic). Transformarea se face prin legare de ornitină (nu apare în figură). Vezi vol. I, pag. 56.

de orotidin-5-fosfat. Este vorba despre deficitul în enzima: orotidin-5-fosfatpirofosforilază. În general, există și un deficit concomitent în enzima ce catalizează reacția a VI-a de sinteză, adică orotidin-5-fosfatdecarboxilaza (vezi fig. 12–7). Acest deficit poate fi pus în evidență în celulele sanguine ale pacienților. Rezultă astfel o acumulare excesivă de acid orotic, care nu este toxic prin el însuși dar poate duce la litiază urinară. Efectele secundare, mai ales hematologice, sînt probabil o consecință a reducerii formării de pirimidin-

nucleotide necesare pentru sinteza de ADN şi ARN. În terapia bolii, uracilul, uridina sau/şi acidul folic s-au dovedit a fi destul de eficace, furnizînd pirimidinele necesare sintezei nucleotidelor. Mai nou s-a descris şi o variantă ereditară a oroticaciduriei, în care lipseşte o singură enzimă, şi anume orotidin-5-decarboxilaza. Întrucît metabolismul pirimidinic are ample legături cu alte căi metabolice, este natural ca tulburările lui să apară şi în alte boli metabolice sau drept consecinţă a administrării unor medicamente care interferează cu aceste căi. Astfel se cunosc azi următoarele feluri de oroticacidurii (Wyndaarden, modificat).

1. Cea descrisă mai sus (cu dublu defect enzimatic, tipul I).
2. Cea cu simplu defect enzimatic (tipul II).
3. Oroticaciduria în deficitul de ornitincarbamiltransferază, care evoluează şi cu hiperamonemia tip II (vezi vol. I. pag. 56).
4. Oroticaciduria secundară inhibitorilor biosintezei pirimidinice (6-azauridina) şi allopurinolului (vezi pag. 289).
5. Oroticaciduria curabilă cu acid folic sau folinic.
6. Oroticaciduria prin deficit de purinnucleozidfosforilază (23).

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

I. *Monografii și articole de sinteză*

1. AMER, B., *Gouttes enzymopathiques chez l'adulte*, Rev. Méd., 1976, 17, 195.
2. BITENSKY, M. V., KEINES, J. J., FREEMAN, J., *cAMP and Clinical Medicine*, Amer. J. Med. Sci., 1973, 266, 320.
3. BOLOȘIU, H. D., DUȚU, AL., MOSORA, N., UDREA, D., *Aspecte clinico-terapeutice și patogenice în gută*, Viața Med., 1972, 19, 111.
4. BORUNDEL, A., CONDACSE, A., RĂDULESCU, I. GR., *Hiperuricemiile*, Ed. med., București, 1976.
5. FEKETE, T., *Despre cAMP*, Viața Med. 1972, 19, 181.
6. KNAPP, A., *Genetische Stoffwechselstörungen*, VEB, C. Fischer, Jena, 1977.
7. MEHNERT, H., FÖRSTER, H., *Stoffwelchselkrankheiten*, G. Thieme, Stuttgart, 1976.
8. MERTZ, D. P., *Gicht*, G. Thieme, Stuttgart, 1971.
9. MY, H., TRAEGER, J., *Rein & Hyperuricémie*, Rev. Méd., 1976, 17, 207.
10. MÜLLER, M. M., KAISER, E., *Die Regulation des Prinstoffwechsels und seine medikamentöse Beeinflussung*, Dtsch. Med. Wschr., 1975, 100, 196
11. SEEGMILLER, E. I. in 13) și *Duncan's Diseases of Metabolism*. 6th Ed. Saunders, Philadelphia, 1969, 516–599.
12. SUTHERLAND, W. E., ROBINSON, W. E., *The Role of cAMP in the Control of Carbonhydrate Metabolism*, Diabetes, 1969, 18, 797.
13. TALBOTT, J. H., YU, T. F., *Gout and Uric Metabolism*, G. Thieme, Stuttgart, 1976.
14. THIER, S. O., WESSLER, S., *An Approach to Disorders of Uric Acid Metabolism*, Arch. Int. Med., 1974, 134, 579.
15. WYNGAARDEN, J. B., KELLEY, W. N., *Gout*, in STANBURY, J. B., WYNGAARDEN, J.B., FREDRICKSON, D.S., *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, McGraw-Hill, New York, 1978, 916–1010.
16. ZIEGLER, A., SEIFERT, K., MAREK, H., *Das extrazelluläre cAMP und seine Bedeutung für die klinische Medizin*, Dtsch. Ges. Wes., 1976, 31, 289.
17. ZÖLLNER, N., *Grundlagen der Gichtforschung*, Münch. Med. Wschr., 1974, 116, 865.

II. *Altele*
18. ACKER, K. J., *Complete Deficiency of Adenine-Phosphoribosyl-Transferase*, New Engl. J. Med., 1977, 297, 127.
19. AUSCHER, C., *Effect of Allopurinol in Gouty Patients, Given Longterm Corticotherapy*, Biomed. Exp, 1974, 4, 448.
20. BACIU, I., *Fiziologie*, ed. II-a, Ed. didactică şi pedagogică, Bucureşti, 1977, 66,
21. BECKETT, A. G., LEWIS, J. G., *Gout and Serum Uric Acid in Diabetes Mellitus*, Quart J. Med., 1960, 29. 443.
22. COHEN, A., *Abnormal Purine Metabolism and Purine Overproduction in a Patient deficient in Purine Nucleoside Phosphorylase*, New Engl. J. Med., 1976, 295, 1449.
23. COHEN, A., *Orotic Aciduria in Two Unrelated Patients with Inherited Deficiency of Purine Nucleoside Phosphorylase*, J. Clin. Invest., 1977, 60, 491.
24. DIAMOND, H. S., LAZARUS, R., KAPLAN, D., *Effect of Urine Flow on Uric Acid Excretion in Man*, Arth. & Rheum., 1972, 15, 338.
25. EDER, M., *Alimentäre Gesichtspunkte der Hyperunrikämiebehandlung*, Wien, Med. Wschr., 1976, 126, 84.
26. FEKETE, T., *Contribuţii la hiperuricemia de foame*, Clujul medical, 1971, 44, 581.
27. FEKETE, T., HANCU, N., HOINĂRESCU, E., *Der Nierenfaktor bei der diabetischen Hyperurikämie. III. Internat. Donausymposium. Salzburg*, IX, 1973, 693.
28. FEKETE, T., *Hyperuricemia of Obesity, 26 Pahlavi Medical Congress Ramsar*, Iran, IX, 1977.
29. FEKETE, T., BOERIU, I. N., TECUCEANU, R., *Modificările uricemiei în obezitate în funcţie de tulburările de glicoreglare şi dislipidemie*, Clujul Medical, 1977, 50, 213.
30. FOX, I. H., HALPERIN, M. H., *Renal Excretion of Uric Acid During Prolonged Fasting*, Metabolism, 1976, 25, 551.
31. FÖRSTER, H., BOECKER, S., ZIEGE, M., *Anstieg der Konzentration des Serum-Harnsaüre nach akuter und chronischer Infusion von Saccharose, Fruktose, Sorbit und Xylit*, Med. Ernährung, 1972, 13, 193.
32. GRIEBSCH, A., KORFMACHER I., *Diät bei Hyperurikämie*, Münch. Med. Wschr., 1975, 117, 1373.
33. GUTMAN, A. B., YU, T. F., BERGER, L., *Renal Function in Gout*, Amer. J. Med., 1969, 47, 575.
34. HASSLACHER, CH., WAHL, P., VOLLMAR, J., *Diabetes und Hyperurikämie*, Dtsch. Med. Wschr., 1914, 99, 2506.
35. HEALEY, L. A., SKEITH, M. D., SIMKIN, P. A, *Hypouricemia*, Arch. Int. Med., 1974, 134, 46.
36. HEUCHENKAMP, P. U., KAISER, W., *Wirkung von Glukoseaustauschstoffen auf den Harnsäuerstoffwechsel des Menschen*, Münch. Med. Wschr., 1975, 117, 1445.

37. HORVÁTH, I., KODAK, ZS., *Koplalásos kúrák tapasztalatai különös tekintettel a szérum-hugysav emelkedésének megelözésére*, Orv. Hetil, 1976, 117, 783.

38. McEWIN, R., *Raised Serum Uric Acid Levels with Myocardial Infarction*, Med. Journ. Austral., 1974, 61, 530.

39. MATZKIES, F., *Behandlung der Hyperurikämie mit einer Kombination von Allopurinol (100 mg) und Benzbromaron (20 mg)*, Dtsch. Med. Wschr., 1976, 101, 1568.

40. MAY, V., ROBERT, H., *Modifications de l'uricémie dans l'infarctus du myocarde*, Rev. Rhumatol., 1975, 42 475.

41. MERTZ, D. P., KOLLER, P. N., *Einfluss anthropometrischer Faktoren auf die Serumharnsäurekonzentration*, Med. Klin,. 1974, 69, 1297.

42. MISUMO, J., *L-5-Hydroxytryptophan in Lesch-Nyhan Syndrome*, New Engl. J. Med., 1977, 296, 210.

43. NARINS, R. G., WEISBERG, J. S., MYERS, A. R., *Effects of Carbohydrates on Uric Acid Metabolism*, Metabolism, 1974, 23, 455.

44. RASTEGAR, A., THIER, S. O., *The Physiologic Approach to Hyperuricemia*, New Engl. J. Med., 1972, 286, 470.

45. REEM, G. H., *Phosphoribosylpyrophosphate Overproduction, a New Metabolic Abnormality in the Lesch-Nyhan Syndrome*, Science, 1975, 190, 1098.

46. SIEGENTHALER-ZUBERT, G., *Welcher Harnsäurewert bedarf der Behandlung?*, Schweiz. Med. Wschr., 1977, 106, 487.

47. THEFELD, W., *Normalwerte der Serumharnsäure*, Dtsch. Med. Wschr., 1973, 98, 380.

48. UCCELLA, R., *Contributo clinico all' interrelazione tra obesità- iperinsulinismo-iperuricemia*, Minerva Med., 1975, 66, 1287.

49. VALOT, J. T., *Les variations de l'uricémie au cours des décompensations respiratoires aigües*, Rev. Rhumatol., 1974, 3, 179.

50. WOERT, M. H. van; *Purine Phosphoribosyl-transferase in Gilles de la Tourette Syndrome*, New Engl. J. Med., 1977, 296, 210.

51. *** *The Anturan Reinfarction Trial*, New Engl. J. Med., 1978, 298, 289.

52. WINOCOUR, P. D., TURNER, M. R., TAYLOR, T. G., and MUNDAY, K. A., *Platelet aggregation in rats, in relation to hyperuricemia, induced by dietary single-cell protein and to protein deficiency.*, Thrombos. Haemostas (Stuttg) 1978, 39, 346.

ÎNTREBĂRI DE CONTROL

1. Unde sînt localizate nucleoproteinele?
   A. În citoplasmă
   B. În nucleu
   C. În ambele

2. Care dintre nucleotidele de mai jos este „mesagerul secund" în transmiterea acţiunii hormonale?
   A. Adenozintrifosfatul
   B. Ciclic adenozinmonofosfatul
   C. 5′ adenozinmonofosfatul
   D. Toţi trei

3. Ce efecte are „mesagerul secund"?
   A. Glicogenoliză
   B. Lipoliză în adipocite
   C. Retroresorbţie tubulară renală crescută de apă
   D. Mobilizarea calciului din oase
   E. Toate cele de mai sus.

4. Care compus de mai sus *nu* este purină?
   A. Cofeina
   B. Xantina
   C. Uracilul
   D. Teobromina

5. Care este sursa cea mai importantă de purine?
   A. Cea alimentară
   B. Catabolismul nucleoproteinelor celulare
   C. Sinteza „de novo"

6. Prin ce mecanism se elimină acidul uric prin rinichi?
   A. Filtraţie glomerulară
   B. Secreţie tubulară
   C. Ambele mecanisme

7. În care boală de sînge se produce hiperuricemie?
   A. Anemie feriprivă
   B. Trombopenie Werlhoff
   C. Leucemie mieloidă
   D. În toate

8. Prin ce mecanism apare hiperuricemia la foame?
   A. Hipovolemie, cu reducerea fluxului sanguin renal
   B. Cetonuria
   C. Ambele mecanisme

9. Care medicament diuretic *nu* produce hiperuricemie?
   A. Tiazidele
   B. Furosemidul
   C. Triamterenul
   D. Mercurialele

10. Prin ce mecanism se poate produce hiperuricemia din gută?
   A. Hiperproducţie de acid uric
   B. Hiposecreţie renală de acid uric.
   C. Ambele

11. Care factor contribuie la producerea inflamaţiei articulare din guta acută?
   A. Stewart-Prower
   B. Christmas
   C. Hageman
   D. Toate trei

12. Care este organul intern cel mai afectat în gută?
   A. Miocardul
   B. Rinichiul
   C. Ficatul
   D. Măduva hematoformatoare

13. Corelaţi medicamentul antigutos cu mecanismul lui de acţiune:

A. Allopurinol	I. Creşte excreţia renală de acid uric
B. Colchicină	II. Inhibă xantin-oxidaza
C. Probenecid	III. Antiinflamator.
D. Fenilbutazonă	IV. Inhibă migrarea leucocitară

14. În care din afecţiunile de mai jos se poate constata o hipouricemie:
   A. Xantinurie
   B. Boli grave de ficat
   C. Secreţie inadecvată de hormon antidiuretic
   D. În toate

15. Care dintre compușii de mai jos *nu* este pirimidină?
   A. Acidul orotic
   B. Uracilul
   C. Timina
   D. Guanina
   E. Citozina

16. Corelați deficitul enzimatic cu sindromul clinic respectiv:

A. Sindrom Lesch-Nyhan	I. Orotidin-5-fosfatpirofosforilaza
B. Hiperuricemie cu defect imunologic.	II. Adenindeamidaza
C. Xantinuria familială	III. Hipoxantin-guanin-fosforiboziltransferaza
D. Oroticaciduria	IV. Xantinoxidaza

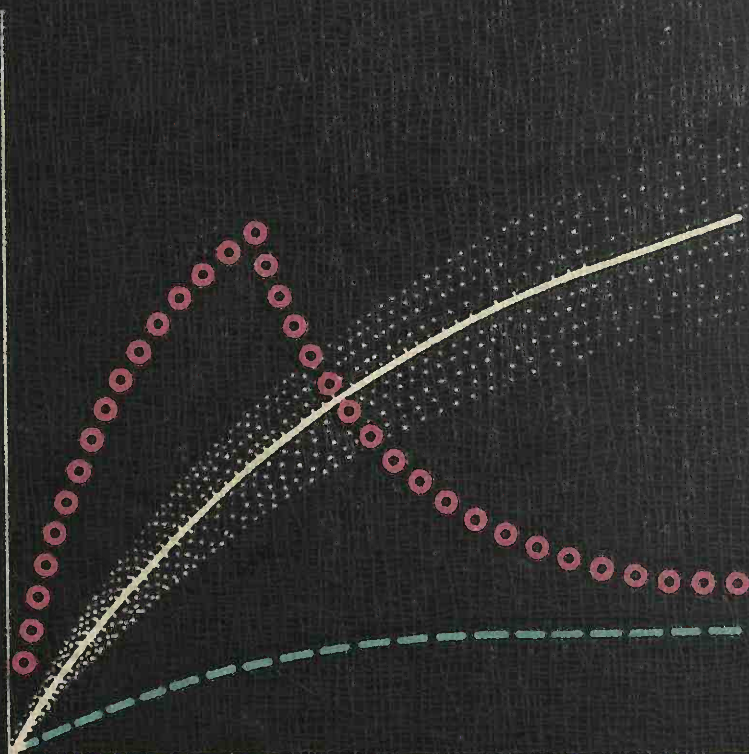
La lectura acestei cărţii cititorul este rugat să ţină cont de următoarele îndreptări: la pag. 19 r. 14 de sus în loc de *gligocorticoizii* se va citi *glico-corticoizii*; la pag. 33 r. 5 de sus în loc de *cu chelator* se va citi *un chelator*; la pag. 35 r. 10 de jos în loc de *retanie* se va citi *tetanie*; la pag. 134 r. 14 de jos în loc de *Cl*, HPO_4 se va citi Cl^-, HP_4^{--}; la pag. 193 r. 2 de jos în loc de *2—4 g* se va citi *2—4 cicluri*; la pag. 205 r. 1 de sus în loc de *etilestradiol* se va citi *etinilestradiol*.

REDACTOR: FELICIA TEODOR. TEHNOREDACTOR: A. MOLNÁR. APĂRUT: 1979. BUN DE TIPAR: 05. 07. 1979. COMANDA NR.: 1862. COLI DE TIPAR: 19. TIRAJ: 11.000+90+30 EX. LEGATE. HÎRTIE: OFSET DE 70 G/M/. FORMAT: 16/61×86. TIPARUL EXECUTAT SUB COMANDA NR. 119/1979 LA ÎNTREPRINDEREA POLIGRAFICĂ CLUJ, MUNICIPIUL CLUJ-NAPOCA, STR. BRASSAI NR. 5—7. REPUBLICA SOCIALISTĂ ROMÂNIA



EDITURA DACIA

Integrarea datelor de biochimie la problemele clinicii necesită un efort susținut de apropiere atît din partea clinicienilor cît și din partea oamenilor de laborator.



Lei 17,–